

Monitorização da vegetação infestante em arrozais e prospecção de resistência a herbicidas em *Echinochloa* spp.

David Jorge Matilde Oliveira

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em
**Engenharia Agronómica – Especialização em Proteção das
Plantas**

Orientadora: Prof.^a Doutora Ana Maria da Silva Monteiro

Coorientadores: Doutora Isabel Maria Silva Monteiro Miranda Calha

Eng.º Filipe Alexandre Casaca Lavrador

Juri:

Presidente: Professora Doutora Maria José Antão Pais de Almeida Cerejeira,
Professora Associada com Agregação, Instituto Superior de Agronomia da
Universidade de Lisboa.

Vogais: Professora Doutora Ana Maria da Silva Monteiro, Professora Auxiliar com
Agregação, Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Professor Doutor João Martim de Portugal e Vasconcelos Fernandes, Professor
Adjunto, Escola Superior Agrária do Instituto Politécnico de Beja.

Agradecimentos

À Prof^a Doutora Ana Monteiro, pela disponibilidade, simpatia e entusiasmo sempre demonstrados e pela passagem de conhecimentos durante toda a conceção deste trabalho.

À Dr^a Isabel Calha, co-orientadora deste trabalho, pela constante disponibilidade para orientar e esclarecer durante o procedimento experimental, pelo grandíssimo apoio bibliográfico e pela simpatia sempre demonstrada.

Ao Eng^o Filipe Lavrador, co-orientador deste trabalho, por ter surgido com a temática das infestantes do arroz, por toda a disponibilidade e ajuda e grande esforço para que os moldes inicialmente planeados desta dissertação se concretizassem.

À Eng^a Teresa Vasconcelos, pela indispensável ajuda na identificação das plantas recolhidas nos inventários.

À Investigadora Marina Triviño por toda a ajuda no laboratório.

À Sr^a Julia, pela valiosa ajuda com o “trabalhinho de chinês”.

A todos os orizicultores que permitiram que eu realizasse os inventários nos seus canteiros.

À minha Madrinha Académica, a Eng^a Sara Ferreira, por todo o contributo para a minha vida académica no ISA e pela influência que acabou por ter na minha escolha de tema de dissertação.

Ao pessoal, Pinto, Marta Soveral, Gasparinho, João, Rita, Fred, Pacheco, Marta Camões, Ricardo, Cândida, Margarida, Marta Segundo, Lia, Patrick, Tixa, Patrícia, Jordão e todos os outros que, mais ou menos, fizeram esta minha passagem pelo Instituto Superior de Agronomia tão espetacular.

À minha família: mãe, irmã, avós, tios, primos, etc. e especialmente, no âmbito da agronomia, ao meu pai, pela influência que teve na escolha deste curso e pelo que sempre me tentou estimular para a vida de agrónomo.

Em memória da minha avó
Albertina, que quando eu era
pequeno dizia para eu estudar
muito para ser um Engenheiro e
eu dizia que não, que eu ia ser
jogador da bola.

Resumo

Este estudo consistiu na prospeção de resistência a dois herbicidas em 12 populações de *Echinochloa* spp. de vários arrozais nas regiões dos vales dos rios Tejo e Sorraia, em Outubro de 2014, e de levantamentos florísticos em arrozais das mesmas zonas. A identificação das espécies de *Echinochloa* de cada amostra foi feita através de uma análise biométrica da cariopse recorrendo ao *software* Smartgrain. Determinou-se o melhor pré-tratamento para quebra de dormência, necessária à obtenção de plântulas para os estudos posteriores. Em placa de Petri efetuou-se a prospeção de resistência, para a definição de uma população suscetível de referência e seleção de outras amostras consideradas como resistentes. Efetuaram-se também três ensaios em estufa: para confirmação da resistência ao penoxsulame, para deteção da resistência múltipla ao proflorizaxime e aferir se a resistência ao penoxsulame era metabólica. A análise biométrica das cariopses de cada população indicou a presença dos táxones *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECHHI) e *E. phyllopogon* (ECHPH). Nos estudos de germinação, o tratamento com ácido sulfúrico foi o que induziu maior percentagem de germinação. No estudo de prospeção de resistência nas 12 populações, a suscetível de referência foi a ECHPH1 e as resistentes para os estudos com planta inteira em estufa foram as ECHPH5, ECHPH6, ECHHI1, ECHHI2 e ECHHI4. Os ensaios com planta inteira em estufa evidenciam a existência de resistência ao penoxsulame, embora não tenha sido detetada resistência ao proflorizaxime, o que contraria a hipótese de resistência múltipla. O terceiro ensaio demonstrou que a resistência ao penoxsulame não era metabólica. Nos levantamentos florísticos as espécies com maior infestação foram *Oryza sativa* e *E. phyllopogon*.

Palavras-chave: Arroz, *Echinochloa*, infestantes, penoxsulame, proflorizaxime.

Abstract

This study consisted in the prospection of resistance to the herbicides penoxsulame and profoxydim in 12 populations of *Echinochloa* spp. from various rice fields in the region of valleys of the Tagus and Sorraia rivers, on October 2014, and floristic surveys in the same regions. The identification of the *Echinochloa* species in each population was made using the software Smartgrain. The best pre-treatment to break the dormancy was determined to produce plants for future studies. On Petri dishes the resistance prospection was made to define a reference susceptible population and to select other populations considered as resistant. Three essays in the greenhouse were also made: to confirm the resistance to penoxsulame, to detect resistance to profoxydim and to ascertain if the resistance to penoxsulame is methabolic. The biometric analysis of the seeds of each sample indicated the presence of the taxa *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECHHI) and *E. Phyllopogon* (ECHPH). In the germination test the treatment with sulphuric acid was the one that induced the higher germination percentage. In the resistance prospection on the 12 populations, the susceptible reference was ECHPH1 and the other chosen as resistant for the whole plant studies in the greenhouse was ECHPH5, ECHPH6, ECHHI1, ECHHI2 and ECHHI4. The whole plant essays in the greenhouse suggested the existence of resistance to penoxsulam though no resistance to profoxydim was detected which opposes the hypothesis of multiple resistance. The third essay showed that the resistance to penoxsulame is not methabolic. The floristic surveys showed that the species with the higher infestation level were *Oryza sativa* and *E. phyllopogon*.

Key words: *Echinochloa*, penoxsulame, profoxydim, rice, weeds.

Extended Abstract

This dissertation reports a series of experimental procedures with the goal of prospection of eventual existence of resistance to the herbicide penoxsulam in 12 populations of *Echinochloa* spp. The seeds were collected in various rice fields in the valleys of the Tagus and Sorraia rivers on October 2014. It also reports a series of floristic surveys in the same region. A biometric analysis of the seeds was made to identify the *Echinochloa* species present in each population, this was made using the software Smartgrain. A germination test was made to ascertain the best treatment to break the dormancy, to be used to obtain plants for future tests. The treatments tested featured a pretreatment with sulphuric acid, a pretreatment with polyethyleneglicol and a treatment with giberelic acid. Then a Petri dish screening test was performed with the objective of choosing a sample as the susceptible for reference and others as resistant. Three whole-plant tests were made in the greenhouse. The first to confirm the results of the Petri dish screening test, the second to detect an eventual multiple resistance to profoxydim, and the third test to analyze if the resistance to penoxsulame was methabolic. Finally a group of floristic surveys were made to evaluate the most disseminated weeds in the rice fields in the municipalities of Coruche and Salvaterra de Magos.

The biometric analysis of the seeds of each population indicated the presence of the *taxa* *E. crus-galli* (L.) P. Beauv subsp. *hispidula* (Retz.) Honda (ECHHI) and *E. phyllopogon* (Stapf) Stapf ex Kossenko (ECHPH). This analysis was inconclusive in only one of the populations.

In the germination test, the best treatment was the 30 seconds pre-treatment with sulfuric acid (H_2SO_4) with 86%, followed by the one with giberelic acid (GA_3) with 68% and, lastly, by the one with polyethyleneglicol (PEG) with 64% of germination. The treatment with PEG induced the briefest latency period, with the first seeds germinating five days after the treatment. This suggests that the mechanism of dormancy in *Echinochloa* spp. is related to the seed's coat, which may be blocking the water absorption, the gas exchange or simply limiting physically the development of the embryo.

The screening tests pointed ECHPH1 as the population susceptible of reference and the populations ECHPH5, ECHPH6, ECHHI1, ECHHI2 and ECHHI4 as the resistant ones.

Due to the unreasonable ED_{50} values in the whole plant essays, the highlight was given to resistance index compared to the recommended herbicide dose. The results indicated the presence of resistance to penoxsulam being the sample ECHPH5 the one with a higher resistance index (fresh weight) of 2.48. No resistance to profoxydim was detected, which rules out the conjecture of multiple resistance. Also, the resistance to penoxsulam is caused by a point mutation and not by the methabolisation by the enzyme complex cytochrome P_{450} , this is suggested by the fact that the conjugation with the organophosphate insecticide clorpirifos did not enhance the efficiency of penoxsulam.

The floristic surveys showed that the species with the higher infestation level were *Oryza sativa* and *E. phyllopogon*.

Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo	ii
Abstract	iii
Extended Abstract	iv
Índice de Figuras	vi
Índice de Quadros;	vi
I - Introdução	1
II – Revisão Bibliográfica	3
2.1 – Infestantes do arroz;.....	3
2.2 - Controlo de infestantes;	6
2.3 – <i>Echinochloa</i> spp.	12
2.4 – Resistência a Herbicidas	18
2.4.1 – Definição de Resistência	19
2.4.2. Mecanismos de resistência em <i>Echinochloa</i> spp.	20
2.4.3. Métodos de prospeção de resistência	24
2.4.4 – Controlo e prevenção	27
III – Atividade Experimental.....	29
3.1. Material e Métodos.....	29
3.1.1. Material Vegetal	29
3.1.2 Identificação das espécies	29
3.1.3. Teste de quebra de dormência	31
3.1.4 Avaliação de resistência.....	31
3.1.5. Dose-resposta com planta inteira em estufa.....	32
3.1.6. Inventários florísticos.....	36
3.1.7 - Análise de dados.....	38
3.2. Resultados e Discussão	39
3.2.1. Identificação das espécies	39
3.2.2. Teste de Quebra de Dormência	40
3.2.3. Avaliação de Resistência	41
3.2.4. Ensaio de Dose-resposta com planta inteira em estufa	51
3.2.4.1. Resistência ao penoxsulame	51
3.2.4.2. Resistência cruzada ao proflidime	57
3.2.4.3. Resistência metabólica ao penoxsulame	63
3.2.5. Inventários florísticos;.....	65
3.3. Conclusões.....	67
IV - Referências bibliográficas.....	69
Anexos.....	

Índice de Figuras

Figura 1. Infestação de <i>Alisma plantago-aquatica</i> L. (orelha-de-mula), <i>Ammania coccinea</i> Rottb. (carapau) e <i>Cyperus diffomis</i> L. (negrinha).	4
Figura 2. Infestação de <i>Cyperus diffomis</i> L. (negrinha) e <i>Leptochloa fusca</i> subsp. <i>fascicularis</i> (Lam.) N. Snow (leptocloa)	4
Figura 3. <i>Cyperus diffomis</i> L. (negrinha).	4
Figura 4. <i>Ammania coccinea</i> Rottb. (carapau).	4
Figura 5. <i>Oryza sativa</i> L. (arroz-bravo)	5
Figura 6. <i>Echinochloa</i> spp. (milhã).	6
Figura 7. Canteiro com presença de <i>Leptochloa fusca</i> subsp. <i>fascicularis</i> (Lam.) N. Snow (leptocloa).	6
Figura 8. Via metabólica da síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada (isoleucina, leucina e valina) e as reações catalisadas pela enzima acetolactato sintetase (ALS) que é inibida pelo penoxsulame. (Adaptado de Oliveira Jr <i>et al.</i> , 2011)	9
Figura 9. Estrutura a duas dimensões (esquerda) e a três dimensões (direita) da molécula de penoxsulame (Fonte: BCPC (2012) e PubChem (2015))	10
Figura 10. Estrutura a duas dimensões (esquerda) e a três dimensões (direita) da molécula de profoxidime. (Fonte: BCPC (2012) e PubChem (2015))	11
Figura 11. Via metabólica da síntese dos ácidos gordos e a reação catalisada pela enzima Acetil-CoA carboxilase (ACCase) que é inibida pelo profoxidime. (Adaptado de Beltrão & Oliveira, 2007)	11
Figura 12. Cariopse de <i>Echinochloa</i> spp. (Fonte: CISEH (2015))	12
Figura 13. Panícula de <i>E. phyllopogon</i> (Stapf) Stapf ex Kossenko (milhã-peluda). Fonte: HYPPA (2015).	15
Figura 14. Exemplo de uma curva de dose resposta. (Fonte: Moss, 1999)	26
Figura 15. Metodologia do software Smartgrain. (Tanaba <i>et al.</i> , 2012)	30
Figura 16. Tabuleiro com plântulas da população 5 para o ensaio 1.	34
Figura 17. Vasos com plântulas da amostra ECHH11, após o transplante, para o ensaio 1.	34
Figura 18. Disposição do material vegetal após o transplante (Ensaio 1 e 2).	34
Figura 19. Disposição do material vegetal após a sementeira (Ensaio 3, 4, 5 e 6).	34
Figura 20. Equipamento pulverizador e botija de ar comprimido.	36
Figura 21. Mapa da zona dos Concelhos de Coruche e Salvaterra de Magos em que foram realizados os levantamentos.	37
Figura 22. Respostas a quatro modalidades de tratamento de quatro amostras de <i>Echinochloa</i> spp. (T – testemunha; C – clorpirifos; P – penoxsulame; PC – clorpirifos + penoxsulame).	64
Figura 23. Respostas a quatro modalidades de tratamento de três amostras de <i>Echinochloa</i> spp. (T – testemunha; C – clorpirifos; P – penoxsulame; PC – clorpirifos + penoxsulame).	64

Índice de Quadros;

Quadro 1. Principais infestantes nos arrozais na área abrangida pela Orivárzea.	5
Quadro 2. Produtos herbicidas com permissão de aplicação na cultura do arroz em Portugal durante a campanha de 2015.	8
Quadro 3. Taxa de <i>Echinochloa</i> spp. identificados em várias obras portuguesas, espanholas e italianas.	14
Quadro 4. Dias até à maturação de vários táxones de <i>Echinochloa</i> spp.	15
Quadro 5. Grupos químicos de herbicidas com mais ocorrências de resistência no género <i>Echinochloa</i> .	21
Quadro 6. Substituições de aminoácidos que podem causar resistência a herbicidas dos grupos químicos das sulfonilureias e das imidazolinonas, inibidores da enzima ALS.	23
Quadro 7. Características de várias espécies do género <i>Echinochloa</i> spp.	30
Quadro 8. Delineamento dos ensaios de germinação.	31
Quadro 9. Populações abrangidas e data de cada uma das aplicações de penoxsulame.	32
Quadro 10. Descrição dos ensaios de dose-reposta com planta inteira em estufa, a diferentes herbicidas.	33
Quadro 11. Calendarização dos ensaios com planta inteira em estufa assim como o estado fenológico das plantas aquando a aplicação.	35
Quadro 12. Infestação de acordo com a frequência relativa (%) e a abundância média (nº plantas/m ²) (Michez & Guillemin, 1984).	37
Quadro 13. Identificação das espécies de <i>Echinochloa</i> spp. por amostra com base nas características biométricas das espiguetas e aristas.	39
Quadro 14. Espécie de cada uma das amostras e designação adoptada.	40
Quadro 15. Percentagem de germinação por tratamento e repetição durante os 13 dias após o tratamento (DAT).	41
Quadro 16. Germinação de sementes tratadas com cinco concentrações de penoxsulame (mg.L ⁻¹) para cada uma das 12 amostras de <i>Echinochloa</i> spp.	42
Quadro 17. Extremos da germinação em cada concentração de herbicida.	43
Quadro 18. Comprimento da radícula (CR) para sementes tratadas com várias concentrações de penoxsulame (ppm) para cada uma das amostras de <i>Echinochloa</i> spp.	44
Quadro 19. Extremos do comprimento da radícula (CR) em cada concentração de herbicida.	45
Quadro 20. Comprimento do coleóptilo (CC) para sementes tratadas com várias concentrações de penoxsulame (mg.L ⁻¹) para cada uma das 12 amostras de <i>Echinochloa</i> spp.	46
Quadro 21. Extremos do comprimento do coleóptilo (CC) em cada concentração de penoxsulame.	47
Quadro 22. Germinação e comprimento da radícula e do coleóptilo, expressos em percentagem relativamente à testemunha, para as 12 amostras de <i>Echinochloa</i> spp.	48
Quadro 23. Valores de EC50 relativamente ao penoxsulame, para cada amostra de <i>Echinochloa phyllopogon</i> e <i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i> em estudo.	49
Quadro 24. Fatores de resistência (FR) de cada amostra relativamente à amostra considerada suscetível de referência para os três parâmetros medidos, para os dois táxones de <i>Echinochloa</i> spp. em estudo.	50
Quadro 25. Amostras selecionadas para os estudos de dose-resposta com planta inteira em estufa.	50
Quadro 26. Efeito do penoxsulame na mortalidade e no peso verde de três plantas, para as doses de 0 g.ha ⁻¹ (testemunha) e 40 g.ha ⁻¹ (N).	51
Quadro 27. Efeito do penoxsulame na sobrevivência (%) de 6 populações de <i>Echinochloa</i> spp.	53
Quadro 28. Efeito do penoxsulame no crescimento (peso verde, g) de 6 populações de <i>Echinochloa</i> spp.	53
Quadro 29. Variações dos valores de sobrevivência e peso verde relativamente às testemunhas.	54
Quadro 30. Valores de ED ₅₀ para todas as amostras tratadas com penoxsulame.	55
Quadro 31. Fatores de resistência (FR) ao penoxsulame de cada amostra relativamente à amostra considerada suscetível de referência (AS) e à dose de campo (N) para os dois parâmetros medidos, para os dois taxa de <i>Echinochloa</i> spp. em estudo.	56
Quadro 32. Efeito do penoxsulame na mortalidade e no peso verde de três plantas, para as doses de 0 g.ha ⁻¹ (testemunha) e 100 g.ha ⁻¹ (N).	57
Quadro 33. Efeito do profloridime na sobrevivência (%) em 6 populações de <i>Echinochloa</i> spp – resposta a uma gama de doses.	58
Quadro 34. Efeito do profloridime no crescimento (peso verde –g) de 6 populações de <i>Echinochloa</i> spp. – resposta a uma gama de doses.	59
Quadro 35. Variações dos valores de sobrevivência e peso verde relativamente às testemunhas.	60
Quadro 36. Variações dos valores de peso verde relativamente às testemunhas.	61
Quadro 37. Valores de ED ₅₀ para todas as amostras tratadas com profloridime.	61
Quadro 38. Fatores de resistência (FR) ao profloridime de cada amostra relativamente à amostra considerada suscetível de referência (AS) e à dose de campo (N) para os dois parâmetros medidos, para os dois taxa de <i>Echinochloa</i> spp. em estudo.	62
Quadro 39. Abundâncias médias, frequências relativas e respetiva classificação de infestação	65

I - Introdução

Portugal, com um consumo de arroz 17 kg por pessoa por ano, é o país que mais consome arroz na Europa (Almeida e Marques, 2013), o que é um indicador da importância deste cereal na alimentação dos portugueses. Mas não só é um alimento importante em Portugal como também o é em todo o mundo, constituindo um alimento base para mais de metade da população mundial. Um quinto da energia fornecida pela alimentação no mundo provém do arroz. Além disso, prevê-se que, até 2030, a procura do arroz suba até valores entre 503 e as 544 milhões de toneladas, o que equivale ao aumento de 1% todos os anos relativamente às 439 milhões de toneladas registadas em 2010 (FAO, 2014).

De modo a suprimir as necessidades alimentares de uma população mundial constantemente em crescimento, os investigadores procuraram sempre novas tecnologias que permitam aumentar as produções e que sejam, ao mesmo tempo, economicamente viáveis. Neste pressuposto enquadrou-se a introdução de pesticidas, que ajudou os agricultores a controlar alguns dos inimigos das culturas e reduzir a perda de produção causada por eles a um custo comportável (Tharayil-Santhakumar, 2003).

A maioria das perdas na cultura do arroz resultam da presença das infestantes, pelo que a maior parte dos custos e tempo dos orizicultores são direcionados para o seu combate. Além dos seus prejuízos diretos, como a competição pelos fatores de produção ou pela perda de valor da colheita por infestação com as suas sementes, as infestantes podem também constituir hospedeiros alternativos para outros inimigos da cultura (Gressel, 2002). Dado isto, é de grande importância a sua remoção dos canteiros.

A flora infestante da cultura do arroz passa principalmente por monocotiledóneas, como as gramíneas (*Echinochloa* spp., *Leptochloa* spp., *Oriza sativa* L., etc.), as ciperáceas (géneros *Cyperus* spp., etc.), as alismatáceas (*Alisma* spp.) e as ponteridáceas (*Heteranthera* spp.). Também há algumas infestantes dicotiledóneas como caso do carapau (*Ammania coccinea* Rottb.) (Vasconcelos e Luzes, 1990; Pacheco, 2015).

As infestantes, e como consequência os seus métodos de controlo, são inerentes à atividade agrícola desde os seus primórdios. Originalmente, essas técnicas passavam pela monda manual, uso de técnicas de lavoura, uso de enxadas primitivas (6000 A.C.), ajuda de animais (1000 A.C.) e complementos mecânicos (1920) passando para o controlo químico com a introdução dos primeiros herbicidas seletivos, o MCPA e o 2,4-D, no ano de 1947 (Heap, 1999). Desde a sua introdução nos sistemas de cultura atual, os herbicidas tornaram-se na principal ferramenta em todos os programas de luta contra as infestantes (Moreno, 2004).

No entanto, o uso repetitivo dos mesmos herbicidas levou à seleção de populações resistentes. E em 1957, dez anos após a introdução dos herbicidas, foi documentado o primeiro caso de uma população da infestante *Daucus carota* L. (cenoura-selvagem) a desenvolver

resistência ao 2,4-D (auxinas sintéticas) na região de Ontário, Canadá (Heap, 2015). O primeiro caso em Portugal, foi documentado em 1995, em que foi identificada a primeira população de *Alisma plantago-aquatica* L. (orelha-de-mula) resistente ao bensulfurão-metilo, substância ativa da família química das sulfonilureias e inibidor da enzima acetolactato sintase (ALS), em arroz (Calha *et al.*, 1999; Heap, 2015).

No que concerne ao género *Echinochloa* spp., infestante em canteiros de arroz, vários estudos referem que o controlo químico foi de eficácia reduzida após a aplicação de herbicidas inibidores da enzima ALS (bispiribace-sódio, penoxsulame, etc.). Alguns exemplos destes estudos são os de Kaloumenos *et al.* (2012) na Grécia, os de Yausor *et al.* (2009) e Riar *et al.* (2012) nos Estados Unidos da América e o de Panozzo *et al.* (2013) na Itália. No entanto, em Portugal muito pouco foi feito ainda.

Este trabalho começa com uma revisão bibliográfica, dividida em quatro partes. Na primeira parte fala-se das principais infestantes da cultura do arroz. Na segunda parte aborda-se o controlo das mesmas infestantes. Na terceira parte aprofunda-se no género de infestantes em estudo (*Echinochloa* spp.) e o quarto e último capítulo da revisão bibliográfica é dedicado à resistência a herbicidas.

Sementes de 13 populações de *Echinochloa* spp. colhidas em Outubro de 2014 em canteiros das bacias hidrográficas dos rios Sorraia e Tejo foram sujeitas a vários estudos, o que constitui a parte experimental deste trabalho juntamente com um conjunto de levantamentos florísticos efetuados em canteiros da bacia hidrográfica dos rios Sorraia e Tejo durante a campanha de 2015. A parte experimental divide-se em cinco partes. As quatro primeiras partes incidem nas populações acima descritas: i) análise biométrica das cariopses afim de identificar os táxones presentes em cada uma das amostras; ii) estudo da germinação para aferir o melhor tratamento de quebra de dormência para a obtenção de plantas para ensaios posteriores; iii) análise da prospeção de resistência à substância ativa penoxsulame, em placa de Petri, para a definição de uma população suscetível de referência e de populações resistentes e iv) ensaios com planta inteira em estufa com o objetivo de: 1) confirmar a resistência ao penoxsulame, 2) detetar resistência múltipla à substância ativa profoxidime e 3) aferir se a resistência ao penoxsulame é de origem metabólica. Apresenta-se ainda o resultado de 100 levantamentos florísticos em arrozais da área onde foram obtidas as populações de *Echinochloa* com o objetivo de inventariar as infestantes com maior grau de infestação, após a aplicação dos herbicidas.

II – Revisão Bibliográfica

2.1 – Infestantes do arroz;

No arroz as infestantes constituem o principal problema fitossanitário, comparativamente com as pragas e doenças, pelos prejuízos que causam. Segundo Oerke e Dehne (2004) as infestantes, as pragas e as doenças são responsáveis por 35%, 24% e 16% das perdas de produtividade, respetivamente, na cultura do arroz. As infestantes são a causa de vários problemas de redução de produtividade em todo o mundo. As perdas que estas provocam variam de país para país dependendo da flora infestante predominante e dos métodos de controlo praticados pelos agricultores. Na China, 10 milhões de toneladas de arroz são perdidas todos os anos devido à competição das infestantes (Ze Pu Zhang, 2001). Esta quantidade é suficiente para alimentar pelo menos 56 milhões de pessoas durante um ano (Barrada, 2003).

O controlo de infestantes é um problema chave e um grande obstáculo para o aumento de produtividade de arroz. A importância dada às infestantes nas culturas advem da competição daquelas pelos fatores de produção. No caso da cultura do arroz estas causam os seguintes problemas: competição pela luz, nutrientes e água, efeitos alelopáticos negativos, hospedeiras ou abrigo para insetos (ex: piolho *Aphis cerealis* Kalt. em infestantes de arrozais no Vale do Sado que depois passou para as plantas de arroz (Matias, 2000)), nematodes e patógenos, redução da qualidade do arroz pelo aumento da percentagem de cariopses verdes, impurezas, trincas e percentagem de humidade e aumento de custos associados à colheita, secagem e limpeza (Cunha, 1985; FAO, 1996; Flint, 1983).

Muitas das espécies infestantes têm um grande potencial reprodutor, gerando milhares de sementes por planta, segundo Arrau deau (1998) *Echinochloa colona* pode produzir 10000 sementes e *Echinochloa crus-galli* 40000 que podem ficar dormentes no solo por 10 a 25 anos. Como consequência, durante a campanha, apesar de a cultura ser feita em regime de alagamento, verifica-se uma germinação escalonada e não sincronizada das sementes presentes no banco do solo ao longo do ciclo cultural. Isto pode comprometer a eficácia dos tratamentos herbicidas e o rendimento final da cultura (Serra, 2005).

As gramíneas são normalmente o primeiro grupo a germinar, juntamente com o arroz, o que torna as primeiras fases da cultura do arroz num período crítico no que à competição diz respeito. Segue-se a germinação das ciperáceas e, posteriormente, as infestantes de folha larga (Datta & Baltazar, 1996).

Segundo Vasconcelos e Luzes (1990), as infestantes dos arrozais englobam espécies de 16 famílias: *Alismataceae*, *Callitrichaceae*, *Compositae*, *Cruciferae*, *Cyperaceae*, *Juncaceae*, *Labiatae*, *Leguminosae*, *Lemnaceae*, *Lythraceae*, *Poaceae*, *Polygonaceae*, *Ranunculaceae*, *Sparganiaceae*, *Typhaceae* e *Umbelliferae*.

Neves (1986) considerou, como infestantes mais importantes, as espécies *Alisma plantago-aquatica* L. (orelha-de-mula) e *A. lanceolatum* With. (orelha-de-mula-lanceolada), espécies da família *Alismataceae*, *Cyperus difformis* L. (negrina) (Figura 1, 2 e 3) e *Schoenoplectus mucronatus* L. (espeto) da família *Cyperaceae*, *Ammania coccinea* Rottb.(carapau) (Figuras 1 e 4) da família *Lythraceae*, *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv. (milhã-pé-de-galo) e *E. phyllopogon* (Stapf.) ex Kossenko (milhã-branca) da família *Poaceae* e *Lindernia dubia* (L.) (manjerico) da família *Scrophulariaceae*.



Figura 1. Infestação de *Alisma plantago-aquatica* L. (orelha-de-mula), *Ammania coccinea* Rottb. (carapau) e *Cyperus difformis* L. (negrinha).



Figura 2. Infestação de *Cyperus difformis* L. (negrinha) e *Leptochloa fusca* subsp. *fascicularis* (Lam.) N. Snow (leptocloa)



Figura 3. *Cyperus difformis* L. (negrinha).



Figura 4. *Ammania coccinea* Rottb. (carapau).

Dias (1998), após efetuar 50 levantamentos da flora adventícia em arrozais nos vales dos rios Tejo e Sorraia, registou 54 espécies distribuídas por 23 famílias, com predominância das gramíneas e as ciperáceas. As espécies com maior frequência relativa, ou seja, que surgiram numa maior fração do total dos inventários, foram *Echinochloa crus-galli* (milhã-pé-de-galo), *Paspalum paspalodes* (Michx.) Scribn. (graminhão) e *Lemna minor* L. (lentilhas-de-água menores) com 98%, 82% e 58% respetivamente. Também se chama à atenção para a *Heteranthera limosa* (Sw.) Willd. como a introdução mais recente até ao ano de 1997 e para



Figura 5. *Oryza sativa* L. (arroz-bravo)

Oryza sativa L. (arroz-bravo) (Figura 5) como uma infestante espalhada por todas as zonas orizícolas portuguesas e que condiciona a continuação da exploração do arrozal.

O COTArroz (2007) considera, como as principais infestantes da cultura do arroz, as *Poaceae* *E. crus-galli* (milhã-pé-de-galo), *E. oryzoides* (Ard.) Fritsch (milhã-do-arroz), *E. phyllopogon* (milhã-branca), *Digitaria sanguinalis* (L.) Scop. (milhã-digitada), *Glyceria declinata* Bréb. (azevém-baboso), *Leersia oryzoides* (L.) Sw. (erva-serra), *Panicum repens* L. (escalracho) e *P. paspalodes* (graminhão), as *Cyperaceae* *C. difformis* (negrinha), *Bolboschoenus maritimus* (L.) Palla (triângulo) e *S. mucronatus* (espeto), as *Alismataceae* *A. lanceolatum* (orelha-de-mula-lanceolada) e *A. plantago-aquatica* (orelha-de-mula), a *Lythraceae* *A. coccinea* Rottb. e a *Scrophulariaceae* *Lindernia dubia* (L.) Pennell.

No Quadro 1 apresentam-se as infestantes mais importantes, na zona abrangida pela Orivárzea, uma associação de orizicultores do Ribatejo na zona da Lezíria do Tejo, segundo Pacheco (2015).

Quadro 1. Principais infestantes nos arrozais na área abrangida pela Orivárzea. (Adaptado de Pacheco, 2015)

Ordem	Família	Espécie	Nome comum
Monocotiledóneas	Gramíneas	<i>Echinochloa crus-galli</i> subsp. <i>P. Beauv crus-galli</i>	milhã-pé-de-galo
		<i>Echinochloa crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i> (Retz) Honda	milhã-do-arroz ou milhã-branca
		<i>Echinochloa phyllopogon</i> (Stapf) Stapf ex Kossenko	milhã-peluda
		<i>Glyceria declinata</i> Bréb.	azevém-baboso
		<i>Leersia oryzoides</i> (L.) Sw.	erva-serra
		<i>Oryza sativa</i> L.	arroz-bravo
		<i>Leptochloa fusca</i> subsp. <i>fascicularis</i> (Lam.) N. Snow	leptocloa
	Ciperáceas	<i>Schoenoplectiella mucronatus</i> (L.) J. Jung & H. K. Choi	espeto
		<i>Cyperus diffomis</i> L.	negrinha
		<i>Bolboschoenus maritimus</i> (L.) Palla	junça
	Ponteridáceas	<i>Heteranthera limosa</i> (Sw.) Willd.	falsas-alismas
		<i>Heteranthera reniformis</i> Ruiz & Pav.	falsas-alismas
		<i>Heteranthera rotundifolia</i> (Kunth) Griseb.	falsas-alismas
	Alismatáceas	<i>Alisma plantago-aquatica</i> L.	orelha-de-mula
		<i>Alisma lancolatum</i> With.	orelha-de-mula-lanceolada
Dicotile-dóneas	Litráceas	<i>Ammania coccinea</i> Rottb.	carapau
	Poligonáceas	<i>Polygonum persicaria</i> L.	erva-pessegueira

Se se tomar em consideração as publicações atrás, nos últimos 30 anos é notória a presença, desde ou quase desde sempre, de várias infestantes, como as milhãs (*Echinochloa* spp.) (Figura 6), as ciperáceas (*Cyperus* spp.), as orelhas-de-mula (*Alisma* spp.), outras gramíneas como a erva-serra (*Leersia oryzoides*), o graminhão (*P. paspalodes*) e o escalracho (*P. repens*) e, em representação das dicotiledóneas, o carapau (*Ammania coccinea*). Também é de relevo a introdução nos anos 90 das falsas-alismas (*Heteranthera* spp.) e o aparecimento, nos últimos anos, da leptocloa (*Leptochloa fusca* subsp. *fascicularis*) (Figura 7).



Figura 6. *Echinochloa* spp. (milhã).



Figuras 7. Canteiro com presença de *Leptochloa fusca* subsp. *fascicularis* (Lam.) N. Snow (leptocloa).

2.2 - Controlo de infestantes;

A monda manual e a transplantação foram comuns em Portugal até à década de 50 (Simões, 1967; Monteiro, 1986). A transplantação foi substituída pela sementeira direta com o canteiro alagado, as operações culturais passaram a ser todas mecanizadas e a monda manual deu lugar à química (Rosa & Espírito Santo, 1984; Sparacino, 1993). A técnica da transplantação dava vantagens competitivas às plantas de arroz relativamente às infestantes, uma vez que estas eram colocadas no arrozal na fase de 4-5 folhas. Esta técnica também facilitava a distinção das infestantes, facilitando a monda manual (Cunha, 1985; FAO 1996; Forner, 1993). Como consequências diretas destas mudanças no sistema de produção da cultura do arroz, o combate às infestantes passou a receber uma maior atenção, com um aumento gradual do número de aplicações de herbicidas (Serra, 2005). O aumento do número de aplicações de herbicidas vai contra dois dos 11 princípios da Produção Integrada indicados por Amaro (2003) - Anexo 1 -, ou seja, o segundo: “minimização dos efeitos secundários inconvenientes decorrentes das atividades agrícolas”; e o nono: “a qualidade dos produtos agrícolas deve ser avaliada por parâmetros ecológicos, além dos critérios clássicos de qualidade, externos e internos. Assim, é de grande importância o estudo, desenvolvimento e aplicação de medidas com o objetivo de minimizar a introdução de sementes ou propágulos de

infestantes (práticas preventivas) (Pacheco, 2015) ou, mesmo que haja introdução, que inibam a sua germinação ou reduzam a sua capacidade de competir e os seus efeitos nefastos na cultura (práticas culturais) e, por conseguinte, evitar ao máximo a necessidade de aplicação de herbicidas.

Medidas Preventivas

Estes métodos, como minimizadores de introdução de material reprodutivo de espécies infestantes nos canteiros de arroz, passam pelo uso de semente isenta de sementes de espécies infestantes, o que é possível pelo uso de semente certificada, pela limpeza das máquinas agrícolas entre trabalhos efetuados em parcelas diferentes (Pacheco, 2015) e pelo controlo das infestantes nos canais de rega, muros e marachas, uma vez que podem constituir um foco de propagação ao canteiro (Portero, 2001).

Medidas Culturais

Uma preparação antecipada do solo promove o arejamento e o aumento da temperatura do solo, o que favorece a germinação das infestantes, que podem ser depois destruídas mecanicamente. Para isto não é aconselhável o uso de charruas, uma vez que o reviramento da leiva poderá trazer à superfície sementes de infestantes que se encontravam dormentes. O tamanho dos torrões também interfere na competição. Torrões com cerca de 5-6 cm protegem contra o vento, promovendo um melhor enraizamento, enquanto que torrões exageradamente grandes podem levar a que hajam sementes de infestantes a germinar a um nível superior e que as sementes de arroz germinem a um nível inferior ou fiquem até escondidas (Pacheco, 2015). Isto vai favorecer a competição exercida pelas infestantes.

A tecnologia laser permite um correto nivelamento dos canteiros, facilitando a gestão e a eficiência do uso da água. Deste modo, com a homogeneização da horizontalidade do canteiro, não há zonas mais ou menos profundas onde as infestantes menos ou mais facilmente se desenvolvam (Datta & Baltazar, 1996). O nível da lâmina de água no canteiro pode ser utilizado para diminuir a competição das infestantes. As condições anaeróbias que se verificam abaixo dos 2-3 cm de profundidade quando a lâmina de água se encontra entre os 5 e os 10 cm de altura dificultam a germinação de plantas (Datta, 1981; Portero, 2001). O intervalo de tempo entre o alagamento do canteiro e a sementeira do arroz deve ser o mais pequeno possível, caso contrário, quando se der germinação do arroz as plântulas já estarão em competição com infestantes mais desenvolvidas. O mesmo se verifica caso a sementeira for realizada com temperaturas baixas, uma vez que estas afetam mais o arroz que as infestantes (Pacheco, 2015). A sementeira em si também vai influenciar posteriormente a maior ou menor facilidade de desenvolvimento das infestantes, ou seja, uma sementeira irregular deixa espaços livres para que as infestantes se desenvolvam, o que contrasta com uma sementeira em que as sementes fiquem equidistantes resistindo melhor a cultura à eventual competição (Pantoja *et al.*, 1997).

A monda manual ainda é uma realidade nos países em desenvolvimento, não sendo praticada nos países desenvolvidos nem em regimes de cultura intensivos de alta produtividade devido ao seu grande consumo de tempo e mão-de-obra. Geralmente, esta operação realiza-se em campos de multiplicação de semente mas, aplicada em campos de produção de arroz lote geral, pode resultar numa redução bastante acentuada do banco de sementes de infestantes na parcela. Também pode ser utilizada para corrigir algumas pequenas “manchas” no canteiro em que a monda química não foi eficaz (Barker & Hayami, 1981; Neves, 1986; Pacheco, 2015).

Medidas Biológicas

A alelopatia caracteriza-se por ser uma interação planta-planta provocada por compostos químicos produzidos pelas plantas. Tanto se observam fenómenos alelopáticos infestantes-arroz como arroz-infestantes (Arrau deau, 1998) como pode também haver situações em que a infestante e a planta de arroz exercem efeitos alelopáticos entre si, como é o caso estudado por Kato-Noguchi (2011) entre *Echinochloa* spp. e arroz. Algumas variedades de arroz já são conhecidas por reduzirem o crescimento de *Echinochloa* spp. e *Heteranthera* spp. A supressão é atribuída a fenómenos alelopáticos ou à combinação destes com a competição (Gealy *et al.*, 2005; Li *et al.*, 2015). Estes princípios alelopáticos podem ser aproveitados de dois modos: por melhoramento genético para a criação de variedades produtivas com capacidades alelopáticas, ou então pelo desenvolvimento de bioherbicidas a partir de compostos alelopáticos (Datta & Baltazar, 1996).

Controlo Químico

No quadro 2 referem-se os produtos herbicidas com autorização de aplicação na cultura do arroz em Portugal durante a campanha de 2015.

Quadro 2. Produtos herbicidas com permissão de aplicação na cultura do arroz em Portugal durante a campanha de 2015. (Adaptado de Pacheco, 2015 e HRAC, 1996)

Código HRAC	Família Química	Substância ativa	Modo de ação	Produto Comercial
A	Ariloxifenoxipropionatos	cialofope-butilo	Inibidor da Acetil CoenzimaA	Clincher®
	Ciclohexadionas	profoxidime	Carboxilase (ACCase)	Aura®
B	Imidazolinonas	imazamox	Inibidores da acetolactato sintetase (ALS)	Pulsar40®
	Pirimidiniloxibenzóicos	bispiribace-sódio		Nominee®
	Sulfunilureias	bensulfurão-metilo		Pull52®
		azimsulfurão		Gulliver®
	Triazolopirimidinas	penoxsulame		Viper®
C ₃	Benzotiadiazinonas	bentazona	Inibidores da fotossíntese no fotossistema II	Basagran®, Kaos®, Kakuru®, Benta 480 SL®
E	Oxadiazonas	oxadiazão	Inibidor da protoporfirina oxidase	Ronstar®
G	Glicinas	glifosato (sal isopropilamónio)	Inibidores da 5-enolpiruvilshikimate-3-fosfato sintase (EPSPS)	6 produtos diferentes.
		glifosato (sal de potássio)	Disruptor do crescimento celular (Auxinas de síntese)	49 produtos diferentes
I	Ácidos fenil carboxílicos	MCPA		6 produtos diferentes
O	Quinolinas	quincloraque	Ação similar à do ácido indolacético, IAA (Auxinas de síntese)	Facet®*

*- Este herbicida não está homologado para ser aplicado na cultura do arroz mas devido a uma autorização especial da DGAV, foi permitida a sua aplicação na campanha de 2015.

O arroz-bravo (*Oryza sativa* L.) é, pela sua proximidade filogenética do arroz, difícil de combater. Para o controlo desta infestante por via química, há a opção de se cultivarem cultivares às quais, através da engenharia genética, seleção de variedades produzidas por cultura de tecidos ou mutagénese (WSSA, 1998) foi induzida resistência a herbicidas.

Em Portugal, já são usadas cultivares “Clearfield”, uma cultivar resistente a herbicidas da família química das imidazolinonas (ex: imazamox). Estas cultivares permitem que se controle as populações de arroz-bravo sem afetar nefastamente a cultura. Também existem variedades de arroz resistentes a outros herbicidas de largo espectro de ação, como as “Liberty Link” e “Roundup Easy”, resistentes ao glufosinato-amónio e glifosato, respetivamente. Estas duas cultivares, como são transgénicas, não podem ser utilizadas em Portugal, enquanto que as cultivares “Clearfield” resultam de uma mutação genética. Ao uso destas variedades é inerente o risco de deriva genética (“*gene flow*”), fenómeno que pode conferir às plantas de arroz bravo a resistência da variedade “Clearfield”, pelo que não se recomenda o uso destas cultivares por mais que duas campanhas seguidas (Roso *et al.*, 2010). Recomenda-se que se semeie de trator em terreno livre de infestantes e a aplicação de produtos residuais em presenteira e pré-emergência para retardar e reduzir a competição das infestantes e facilitar o controlo pós-emergência (BASF, 2015a).

Penoxsulame

O penoxsulame é uma substância ativa da família química das triazolopirimidinas e actua na síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada leucina, isoleucina e valina, através da inibição da enzima ALS (acetolactato sintase) (Figura 8). A sua fórmula química é $C_{16}H_{14}F_5N_5O_5S$ (Figura 9) e trata-se de um sólido quase branco com cheiro a mofo. Foi desenvolvida pela DOW Agrosciences como herbicida para a cultura do arroz e foi registado e comercializado pela primeira vez na Turquia em 2004. Em Portugal é comercializado pela Lusosem (Viper®, 20 gL⁻¹ s.a., OD).

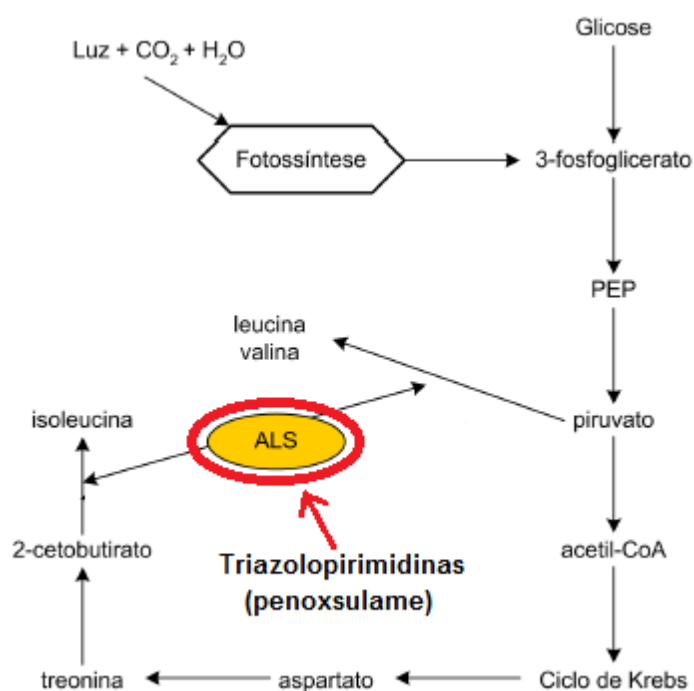


Figura 8. Via metabólica da síntese dos aminoácidos de cadeia ramificada (isoleucina, leucina e valina) e as reações catalisadas pela enzima acetolactato sintetase (ALS) que é inibida pelo penoxsulame. (Adaptado de Oliveira Jr *et al.*, 2011)

O produto pode ser aplicado em pré-emergência, pós-emergência e *com o canteiro alagado*. Controla *Echinochloa* spp. e outras infestantes de folha larga, aquáticas e ciperáceas (tal como *Alisma plantago-aquatica*, *Ammania coccinea*, *Cyperus difformis* e *Schoenoplectus*

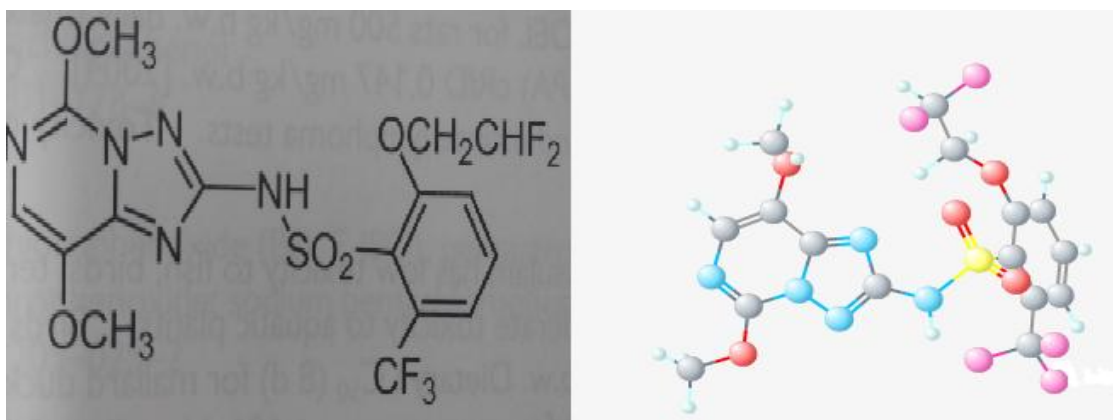


Figura 9. Estrutura a duas dimensões (esquerda) e a três dimensões (direita) da molécula de penoxsulame (Fonte: BCPC (2012) e PubChem (2015))

mucronatus) (BCPC, 2012). Os herbicidas inibidores da ALS têm como vantagens o seu largo espectro de infestantes controladas, a sua seletividade e a sua segurança para com o aplicador e o consumidor (Yasuor *et al.*, 2009)

Este herbicida é absorvido principalmente pelas folhas mas também secundariamente pelas raízes e é translocado no floema e no xilema. Provoca uma quase imediata inibição do crescimento e clorose com necrose no rebento terminal, o que resulta na morte da planta em duas a quatro semanas.

Relativamente à toxicologia, esta substância ativa apresenta um DL₅₀ (dose letal para 50% da população) para ratos superior a 5000 mg.kg⁻¹ por via oral e superior a 3,5 mg.L⁻¹ por via inalatória e um NOEL (“*no observed effect level*”) de 500 mg.kg⁻¹. Apresentou também uma dose letal (DL₅₀) cutânea superior a 5000 mg.kg⁻¹ para coelhos bem como moderadas e temporárias irritações nos olhos e pele. Apresenta também uma baixa toxicidade para peixes, aves e invertebrados terrestres e aquáticos (BCPC, 2012).

Na água, a degradação é principalmente por fotólise e por meios biológicos, apresentando um DT₅₀ (tempo necessário para degradar 50% de um composto) de dois dias para fotólise na água. Para a fotólise no solo, o penoxsulame apresenta um DT₅₀ de 19 dias. Em condições de sementeira alagada o penoxsulame apresenta um DT₅₀ médio de 6,5 dias (4-10 dias), enquanto que, para condições de sementeira a seco, este valor sobe para uma média de 14,6 dias (13-16 dias) (BCPC, 2012).

Profoxidime

O profoxidime é uma substância ativa da família química das ciclohexadionas cuja fórmula química é $C_{24}H_{32}ClNO_4S$ (Figura 10) e actua na biosíntese de ácidos gordos através da inibição da enzima acetil CoA carboxilase (ACCase) (BCPC, 2012). Esta enzima, que se encontra no estroma dos tilacoides, converte acetil CoA em malonil CoA, através da adição de CO_2 (HCO_3^-) à acetil CoA, no primeiro passo da síntese dos ácidos gordos (Figura 11). A inibição da síntese dos ácidos gordos bloqueia a produção de fosfolípidos utilizados na construção de novas membranas necessárias para o crescimento celular.

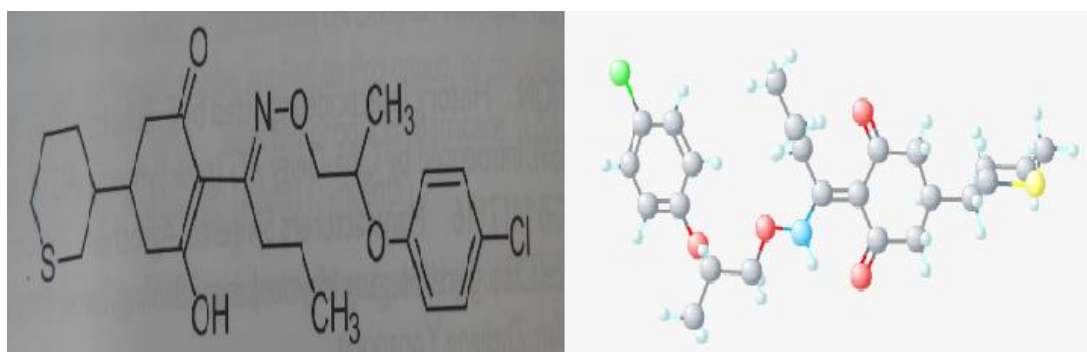


Figura 10. Estrutura a duas dimensões (esquerda) e a três dimensões (direita) da molécula de profoxidime. (Fonte: BCPC (2012) e PubChem (2015))

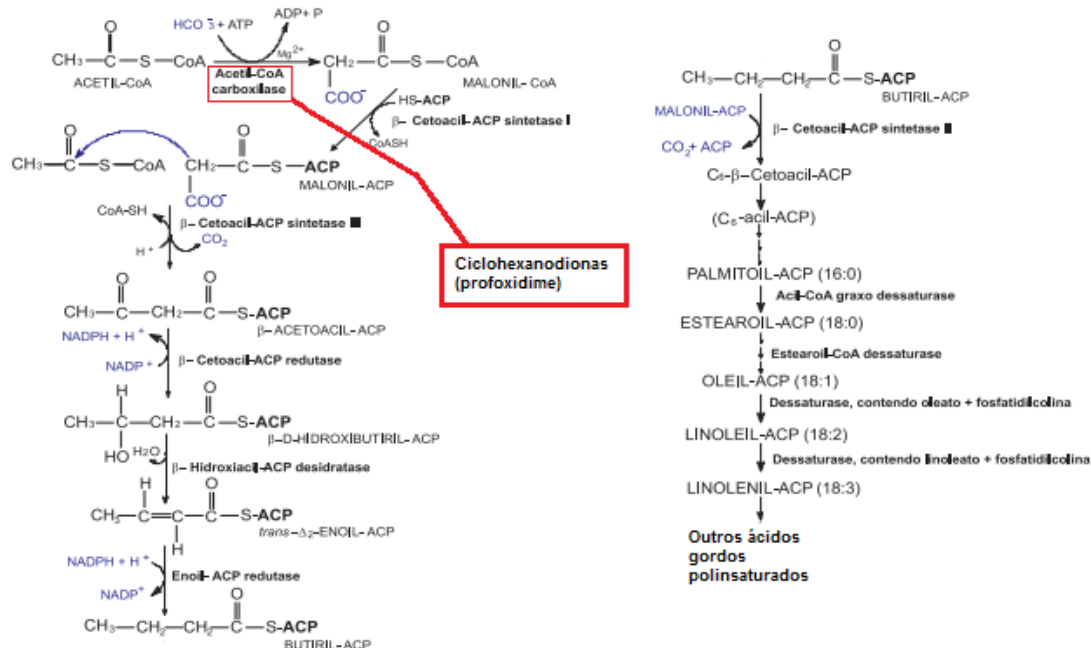


Figura 11. Via metabólica da síntese dos ácidos gordos e a reação catalisada pela enzima Acetil-CoA carboxilase (ACCase) que é inibida pelo profoxidime. (Adaptado de Beltrão & Oliveira, 2007)

Foi desenvolvido pela BASF (Aura®, 200 gL⁻¹ s.a., EC) como herbicida para a cultura do arroz e registada pela primeira vez em 1998 (BCPC, 2012).

Este herbicida é utilizado em pós-emergência e em mistura com o adjuvante DASH HC® (Oleato de metilo + Palmilato de metilo) (BASF, 2015b) para o controle de infestantes pertencentes aos gêneros *Echinochloa* spp., *Brachiaria* spp., *Digitaria* spp., *Eleusine* spp., *Leptochloa* spp. *Setaria* spp. tal como outras infestantes como *Ischaemum rugosum* Salisb. e *Rottboelia exaltata* (L.) L. f. Esta substância ativa é translocada através da planta até aos tecidos meristemáticos. As infestantes param de crescer, fenómeno que é acompanhado por um amarelecimento e avermelhamento das folhas mais jovens. Relativamente aos aspetos toxicológicos, esta substância ativa apresenta um DL₅₀, para ratos, superior a 5000 mg/kg por via oral e superior a 5,2 mg/L por via inalatória, apresentou um NOEL de 5 mg/kg e não se revelou irritante para a pele e olhos em coelhos (BCPC, 2012). O profoxidime é rapidamente degradado no solo (em laboratório a 20°C) com um DT₅₀ de 3-13 dias, período esse que é menor sob a influência da luz solar e em condições de cultivo de arroz (BCPC, 2012).

2.3 – *Echinochloa* spp.

Segundo Franco & Afonso (1998) o género *Echinochloa* é caracterizado por ervas anuais ou vivazes cespitosas; raiz fasciculada; caule do tipo colmo com os nós bem definidos e entrenós revestidos pelas bainhas das folhas que os envolvem, sub-ereto ou prostrado; folhas de limbo geralmente plano e glabro; lígulas nula nas espécies europeias; bainha e pulvinos glabros ou pubescentes; inflorescência formada por cachos espiciformes e unilaterais alternos, opostos ou verticiliados, inseridos ao longo de um eixo central ou sobre os ramos duma panícula; espiguetas elípticas ou ovadas, convexas no dorso e planas na fase ventral, dispostas em curtos fascículos ou geminadas; flores duas; glumas muito desiguais, membranáceas, a inferior mais curta, a superior tão comprida como a espiguetas e mucronada ou mais ou menos aristada, geralmente providas de espínulas nas nervuras; lema de flor estéril semelhante à gluma superior; lema de flor fértil endurecida, brilhante, apenas envolvendo as margens da pálea; lidículos dois, truncados no ápice e com vacúolos; estames três e dois estigmas brancos ou vermelhos; cariopse elipsoide, plano-convexa, inclusa na lema e pálea endurecidas (Figura 12).

Segundo Holm *et al.* (1977), os *taxa* do género *Echinochloa* surgem como importantes infestantes do arroz, algodoeiro, cana-do-açúcar, amendoim, bananal, feijoeiro, milho, sorgo e tomate. A sua importância deve-se à competição que exerce pela água,

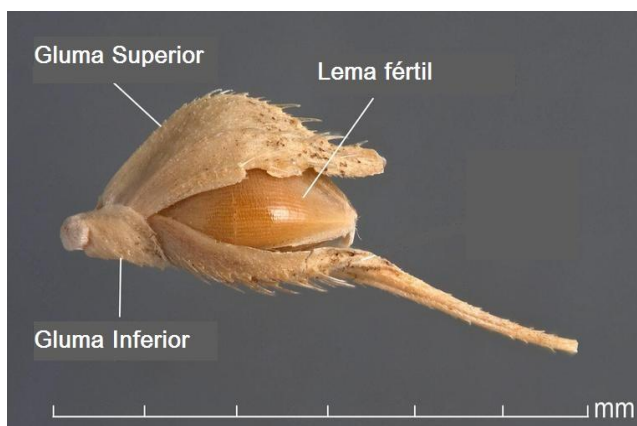


Figura 12. Cariopse de *Echinochloa* spp. (Fonte: CISEH (2015))

nutrientes, luz e espaço e da resistência adquirida a vários grupos químicos de herbicidas. Por outro lado, algumas espécies deste género acumulam uma grande quantidade de nitrato nas suas folhas, que faz que com que sejam altamente tóxicas para animais de sangue quente (Schmutz *et al.*, 1968) e servem de hospedeiros alternativos para patógenos das culturas (Togashi, 1942). As suas sementes podem servir de alimento para algumas aves (Ah *et al.*, 2004) e, em algumas regiões, para humanos (Partohardjono & Jansen, 1996; Global Facilitaion Unit, 2009).

Na cultura do arroz a importância do género *Echinochloa* ainda é maior, uma vez que algumas das suas espécies apresentam grande adaptabilidade aos diferentes ecossistemas em que este cereal é cultivado (Kim, 1994). Segundo Barrett (1983) a elevada tolerância ecológica e a capacidade em se assemelhar à planta do arroz são as razões do sucesso destas infestantes que estão referenciadas nos arrozais em mais de 60 países

Taxonomia e distribuição

Taxonomia do género *Echinochloa* segundo a *Flora Europaea* (Tutin *et al.*, 1980) e a classificação de Cronquist (1981): Reino – *Plantae*; Divisão: *Angiospermae*; Classe – *Mnecotyledonea*; Ordem – *Graminales*; Família – *Gramineae*; Género – *Echinochloa* P. Beauv.

Em 1753, Carolus Linnaeus (1707-1778), na sua obra intitulada *Species Plantarum*, criou o género *Panicum* L. em que colocou mais de 400 espécies de gramíneas então descritas. Em 1807, Ambroise Marie Palisot de Beauvois (1752-1820) criou o género *Oplismenus* P. Beauv. e em 1812 o género *Echinochloa* P. Beauv (epíteto composto de “*echinos*”, que em grego significa ouriço, e de “*chloa*”, palavra grega utilizada para designar várias gramíneas) para arrumar parte das espécies do género *Panicum*.

O género *Echinochloa*, atualmente, é composto por, aproximadamente, 50 espécies (Michael, 2003). No entanto existe confusão taxonómica neste género, sendo exemplo a espécie *E. oryzicola* a ser varias vezes designada por *E. phyllopogon* (Stapf) Kossenko, *E. crus-galli* var. *oryzicola* (Vasing.) T. Koyama ou *E. crus-galli* var. *oryzicola*. *E. oryzicola* também já foi erroneamente designada como *E. crus-galli* var. *formosensis* Ohwi (Aoki & Yamaguchi, 2009; Yamaguchi *et al.*, 2005; Yabuno, 1981). A solução para resolver os problemas de identificação das espécies têm sido o recurso a técnicas moleculares (Ye *et al.*, 2014).

Quadro 3. Taxa de *Echinochloa* spp. identificados em várias obras portuguesas, espanholas e italianas.

Autores	Ano da Publicação	Países	Nº de táxones	Designação Científica (<i>E.</i> = <i>Echinochloa</i>)
Vasconcelos e Luzes	1990	Portugal	2	<i>E. crus-galli</i> (L.) Beauv <i>E. oryzoides</i> (Ard.) Fritsch
Moreira <i>et al.</i>	2000	Portugal	2	<i>E. crus-galli</i> (L.) P. Beauv <i>E. colonum</i> (L.) Link
Portugal <i>et al.</i>	2000	Portugal	3	<i>E. colonum</i> (L.) Link <i>E. crus-galli</i> (L.) P. Beauv <i>E. oryzicola</i> (Vasinger) Vasinger
DuPont	2002	Espanha	5	<i>E. colonum</i> (L.) Link = <i>E. colona</i> (L.) Link <i>E. crus-galli</i> (L.) Beauv <i>E. hispidula</i> (Retz.) Nees ex Royle = <i>E. crus-galli</i> (L.) Beauv subsp. <i>hispidula</i> (Retz.) Honda = <i>E. phyllopogon</i> (Stapf.) Vasc. = <i>E. erecta</i> Pollaci <i>E. oryzicola</i> (Vasinger) Vasinger = <i>E. crus-galli</i> (L.) Beauv. var. <i>oryzicola</i> <i>E. oryzoides</i> (Ard.) Fritsch = <i>E. crus-galli</i> (L.) Beauv. subsp. <i>oryzoides</i> = <i>E. hostii</i> (Biéb.) Link = <i>E. macrocarpa</i> Vasing.
Viggiani, Tabacchi e Angelini	2003	Itália	6	<i>E. colonum</i> (L.) Link = <i>E. verticillata</i> Berhant. <i>E. crus-galli</i> (L.) Beauv. <i>E. crus-pavonis</i> (H. B. K.) Schultes <i>E. erecta</i> (Pollacci) Pignati = <i>E. hispidula</i> (Retz.) Nees ex Royle = <i>E. phylloryzoides</i> Novelli <i>E. oryzoides</i> (Arduino) Fritsch = <i>E. coarctata</i> Koss. = <i>E. commutata</i> Schultes in Roemer = <i>E. macrocarpa</i> Vasing. <i>E. phyllopogon</i> auct. Non Stapf. = <i>E. oryzicola</i> (Vasing.) Vasing
Medina	2005	Portugal		<i>E. colona</i> (L.) Link <i>E. crus-galli</i> (L.) P. Beauv. subsp. <i>crus-galli</i> <i>E. crus-galli</i> (L.) P. Beauv subsp. <i>hispidula</i> (Retz.) Honda <i>E. esculenta</i> (A. Braun) H. Scholtz <i>E. frumentacea</i> (Roxb.) Link <i>E. muricata</i> (P. Beauv.) Fernald var. <i>microstachya</i> Wiegand <i>E. oryzoides</i> (Ard.) Fritsch <i>E. phyllopogon</i> (Stapf) Stapf ex Kossenko
Recasens e Cosena	2009	Espanha	5	<i>E. colonum</i> (L.) Link <i>E. crus-galli</i> (L.) Beauv <i>E. oryzoides</i> (Ard.) Fritsch <i>E. oryzicola</i> (Vasinger) Vasinger <i>E. hispidula</i> (Retz.) Nees ex Royle = <i>E. phyllopogon</i> (Stapf) Vasc.

As espécies do género *Echinochloa* estão distribuídas por praticamente todas as regiões do mundo, sobretudo nas regiões tropicais e subtropicais onde são consideradas frequentemente infestantes. São plantas de lugares húmidos ou inundados, de baixa a média altitude (Duke, 1978) e preferem áreas expostas e raras vezes se encontram em locais ensombrados (Ramakrishnan, 1960). Ocorrem com mais frequência em solos argilosos e ricos

em azoto (Holm *et al.*, 1977) de zonas pantanosas e de passagem de água, em terras lamacentas, lagos, valas e zonas inundadas (Yabuno, 1983), podendo ainda crescer em campos cultivados, prados, margens de valas e charcos adaptando-se bem a sítios encharcados, algumas das suas espécies são frequentes nos arrozais e meios aquáticos.

Biologia

No quadro 4 apresenta-se a duração do ciclo de vida de vários táxones do género *Echinochloa*, segundo os resultados obtidos por Medina (2005).

Quadro 4. Dias até à maturação de vários táxones de *Echinochloa* spp. (Adaptado de Medina, 2005)

Espécie	Duração do ciclo de vida (Dias)
<i>E. colona</i> (L.) Link	68
<i>E. crus-galli</i> (L.) P. Beauv. subsp. <i>crus-galli</i>	68-123
<i>E. crus-galli</i> (L.) P. Beauv. subsp. <i>hispidula</i> (Retz.) Honda	88-133
<i>E. esculenta</i> (A. Braun) H. Scholz	88-98
<i>E. frumentacea</i> Link	133
<i>E. oryzoides</i> (Ard.) Fritsch	113-133
<i>E. phyllopogon</i> (Stapf) Stapf ex Kossenko (Figura 14)	113-143

Apesar de serem ambas gramíneas, os processos fotossintéticos são diferentes: *Echinochloa* spp. são espécies C₄, enquanto que *Oryza* spp. são espécies C₃. Consequentemente são aquelas que utilizam mais eficientemente os recursos disponíveis, tendo um maior consumo de dióxido de carbono com temperaturas elevadas e sendo a sua fotossíntese menos inibida pelo oxigénio atmosférico (Serra, 2005). Na primavera, quando as temperaturas são baixas o crescimento é lento mas as plantas crescem rapidamente com o calor do verão (Vengris *et al.*, 1966). Além disto, o seu rápido crescimento, elevada produção de semente, a dormência das suas sementes e adaptabilidade a uma vasta gama de condições edafoclimáticas contribuem para a propagação e agressividade das espécies deste género (Galinato *et al.*, 1999). Os táxones deste género apresentam-se adaptados tanto à



Figura 13. Panícula de *E. phyllopogon* (Stapf) Stapf ex Kossenko (milhã-peluda). Fonte: HYPPA (2015).

luminosidade como ao ensombramento, embora prefiram locais solarengos. Surgem em baixas e médias altitudes. Crescem bem em vários tipos de solos. Gostam de solos húmidos, como zonas de drenagem, zonas pantanosas e também de pastagens de baixa cota e de parcelas agrícolas. Embora prefiram solos húmidos, também cresce bem em solos mais secos (Galinato *et al.*, 1999). Nas regiões frias aparece nas zonas baixas e inundadas dos campos cultivados, vegetando melhor nos locais onde as temperaturas anuais variam entre os 14 e os

16°C (Valverde *et al.*, 2001). No entanto, lençóis de água com profundidade superior a 10 cm inibem o crescimento das plântulas (Yabuno, 1983). Em *E. crus-galli* o alongar das plântulas é melhor a 30°C, é lento a 10°C e pára a 5°C. A níveis muito baixos de oxigénio, as plântulas alongam 1 a 2 cm e depois morrem (Galinato *et al.*, 1999). A floração destas espécies normalmente dá-se em condições de dia curto (Vengris *et al.*, 1966), mas estão adaptadas a florir em vários tipos de fotoperíodo (Holm *et al.*, 1977).

As espécies deste género são autogâmicas e com elevados níveis de auto compatibilidade. Além disto, o seu sistema de reprodução passa predominantemente pela autopolinização com ocasional polinização cruzada através da ação do vento (Maun & Barrett, 1986).

Germinação

A produção de sementes na ordem das dezenas de milho das espécies de *Echinochloa* spp. levam à constituição de grandes bancos de sementes. Resultados de Bagavathiannan *et al.* (2011), em várias parcelas no Estado do Arkansas, nos Estados Unidos da América, apontaram para bancos de sementes com 0 a 215000 sementes.m⁻² com uma média de 6000 sementes.m⁻² de *E. crus-galli*. A germinação escalonada e não sincronizada por parte das sementes das infestantes presentes no banco de sementes do solo compromete a eficácia dos tratamentos herbicidas e o rendimento final da cultura (Serra, 2005). Nem todas as sementes viáveis quando semeadas germinam. A proporção de sementes que não germina varia com as condições de germinação, porque as sementes não são geneticamente idênticas. A expressão da hereditariedade na forma de germinação depende do ambiente durante a formação de semente, maturação e dormência. Os fatores genético e ambiental interagem para produzir maior variabilidade na germinação de diferentes tipos de sementes (Boswell, 1961).

O termo “dormência das sementes” tem sido usado para descrever dois estados inativos: um resultante das condições ambientais desfavoráveis e outro devido a bloqueios de germinação internamente impostos (Boswell, 1961). Uma das razões para a falta de germinação das sementes são as condições ambientais desfavoráveis, isto é, as sementes podem estar num saco de papel numa prateleira de um laboratório (isto é, com falta de água), enterradas na lama no fundo de um lago (isto é, com falta de oxigénio e/ou luz) ou exposta a temperaturas acima ou abaixo das adequadas à sua germinação. Estes são exemplos de como o ambiente, em vez de algum fator relacionado com a própria semente, pode inibir a germinação da semente. Uma segunda razão para a não germinação das sementes pode ser alguma propriedade da semente que previne a germinação. Neste caso, a falta de germinação deve-se a um problema da semente em vez de a um problema ambiental. A dormência que se deve a alguma característica da semente é designada de dormência orgânica (Baskin & Baskin, 2001). De acordo com Nikolaeva (1969, 1977) existem dois tipos de dormência orgânica: endógena e exógena. A dormência endógena é provocada por alguma característica

do embrião enquanto que a dormência exógena é provocada pelas estruturas que envolvem o embrião.

Bewley e Black (1982), enumeraram os seguintes possíveis mecanismos para a dormência pelas estruturas envolventes: i) Interferência na captação de água; ii) Interferência nas trocas gasosas; iii) Presença de inibidores químicos; iv) Modificação da luz que atinge o embrião; v) Invólucros da semente exercendo uma limitação mecânica.

Na natureza, a dormência pode ser removida por uma combinação natural de tempo e exposição aos elementos. Um invólucro duro pode ser amolecido no solo alternando congelamento e descongelamento ou alternando humedecimento e secagem. Microrganismos que usam o invólucro como fonte de carbono orgânico podem-no decompor, e uma baixa temperatura do solo pode cumprir o requisito de frio para a germinação. Secagem por um período de tempo constitui uma pós-maturação em condição seca, que induz alterações favoráveis no invólucro para permitir a germinação.

Em laboratório, escarificação mecânica consistindo em soprar sementes contra pontos abrasivos ou esfrega-las numa superfície abrasiva pode ser efetuada para remover artificialmente os invólucros das sementes. A Água quente e ácidos também podem ser usados para escarificar quimicamente os invólucros das sementes (Desai *et al.* 1997). O condicionamento fisiológico tem sido utilizado para reduzir o tempo de germinação, aumentar a capacidade germinativa, a uniformidade e vigor das plântulas. Dentre as técnicas de condicionamento fisiológico o osmocondicionamento tem sido a mais utilizada. Essa técnica consiste num pré-tratamento, onde as sementes são imersas em solução osmótica, sob tempo e temperatura determinados (Pereira *et al.* 2008). O potencial osmótico da solução regula a quantidade de água a ser absorvida, permitindo que as sementes alcancem as fases iniciais da germinação. A diminuição no potencial hídrico do meio está associada a um aumento da pressão osmótica da solução. Esse efeito pode ser reproduzido em soluções pela utilização de agentes osmóticos, sendo o polietilenoglicol (PEG) o composto mais utilizado, por ser praticamente inerte em relação ao metabolismo da planta durante a germinação (Costa & Villela, 2006). Também Di Nola & Taylorson (1990) referem que a dormência de sementes embebidas pode ser removida por tratamentos com álcoois antes da exposição das sementes a condições térmicas propícias para a germinação. Diferentes álcoois têm diferentes efeitos, por exemplo, n-propanol remove a dormência mas o isopropanol não tem efeito na quebra de dormência. Dormência imposta pelo invólucro pode ser eliminada por tratamentos das sementes, que incluem tratamentos químicos, de calor, abrasivos ou perfuração do invólucro da semente, o que permite a germinação da semente (Jones, 1999). As giberelinas bioativas, como o GA₃, promovem a germinação de sementes em várias espécies de plantas. (Yamaguchi & Kamiya, 2002). Hooley (1994) propôs que o GA₃ promove a germinação da semente estimulando o crescimento do embrião e induzindo a produção de hidrolases para enfraquecer as estruturas ao redor do embrião.

Vários estudos demonstraram que espécies como *E. oryzoides*, *E. phyllopogon*, *E. crus-pavonis* e *E. crus-galli* podem germinar e crescer em condições de déficit de oxigênio que caracterizam os solos alagados (Pearce & Jackson, 1991; Pearce *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 1994; Fox *et al.*, 1995; Fukao *et al.*, 2003; Chauhan & Johnson, 2011; Ismail *et al.*, 2012). Isto faz com que o controle de infestantes por alagamento precoce seja menos eficiente. Além disso, há espécies de *Echinochloa* spp., como *E. crus-galli*, que são mais tolerantes ao alagamento que outras, como *E. colona* (Holm *et al.*, 1977; Mujer *et al.*, 1993). Nas espécies tolerantes à anoxia estudadas, a glicólise e a fermentação alcoólica demonstraram funcionar sobre hipoxia (Rumpho & Kennedy, 1983a; Rumpho & Kennedy, 1983b). Além disso, estas espécies têm a capacidade de expelir a maior parte do etanol produzido durante a germinação anaeróbia para o meio externo e as plântulas são muito tolerantes ao etanol (Rumpho & Kennedy, 1983b; Kennedy *et al.*, 1987).

Também existem vários estudos efetuados relacionados com a resposta de germinação de sementes expostas a diferentes condições de escuridão e luminosidade. *E. colona* apresenta clara tendência para germinar pior na obscuridade do que com luz e obscuridade alternadas (Carretero, 1981). Holm *et al.* (1977) também indica a necessidade de luz para uma melhor germinação. *E. crus-galli* parece germinar de igual modo tanto em condições de obscuridade como de luminosidade (Carreto, 1981). Em *E. crus-galli* subsp. *hispidula* há germinação de cerca de 95% com luz e obscuridade (em condições de alternância) enquanto que na obscuridade há populações em que a germinação é nula ou em muito pouca proporção e populações com resposta idêntica às expostas à alternância (Carretero, 1981). Em *E. phyllopogon*, de acordo com Szilvássy (1976), germinam mais de 95% das sementes em alternância e na obscuridade a resposta é igual ou ligeiramente menor. Também de acordo com Szilvássy (1976), em *E. oryzoides*, há germinação de 95% das sementes sendo que na obscuridade a germinação é bastante menor.

2.4 – Resistência a Herbicidas

A introdução dos pesticidas na agricultura ajudou os agricultores a controlar alguns dos problemas fitossanitários e ao mesmo tempo reduzir as perdas de produção provocadas por estes a um custo acessível. No entanto, juntamente com as vantagens, também surgiram algumas desvantagens, sendo o desenvolvimento de resistência aos pesticidas nos organismos alvo a mais proeminente.

Devido a uma introdução mais tardia dos herbicidas (relativamente aos inseticidas e fungicidas) e aos ciclos de vida das plantas serem mais longos que os dos insetos ou fungos, a resistência aos herbicidas foi a última a surgir (Tharayil-Santhakumar, 2003). O primeiro caso de resistência a herbicidas encontrado em 1957, em Ontário, Canadá. A espécie é *Daucus carota* e apresentou resistência ao 2,4-D, uma auxina sintética (Whitehead & Switzer, 1963). Na cultura do arroz, o primeiro caso foi encontrado em 1983, nas Filipinas, em que biótipos de

Sphenoclea zeylanica (Sphenocleaceae) apresentaram resistência também ao 2,4-D (Heap, 2015). Em Portugal, o primeiro caso de resistência a herbicidas verificou-se na cultura do arroz. Em 1995 foram confirmados biótipos de *Alisma plantago-aquatica* resistentes ao bensulfurão-metilo, um herbicida da família química sulfonilureia que actua como inibidor da enzima ALS (acetolactato sintase) (Calha *et al.*, 1995; cit in: Calha, 2006). Desde aí já foram identificados mais quatro casos de resistência em herbicidas em Portugal: Um de resistência à atrazina (inibidor do fotossistema II) em *Chenopodium album* (2003) (Mora, 2005) e *Conyza bonariensis* (2010), *Conyza canadensis* (2011) (Mendes, 2011) e *Lolium perenne* (2013), estes três últimos casos apresentaram resistência ao glifosato, um herbicida inibidor da enzima EPSP sintase (Heap, 2015).

2.4.1 – Definição de Resistência

A resistência adquirida aos herbicidas é a capacidade hereditária das plantas (de uma espécie até então suscetível) em sobreviver à dose de herbicida que anteriormente a controlava (Calha, 2011). O maior problema inerente à resistência é a perda de eficácia do herbicida responsável pela seleção. Este problema toma outras dimensões no caso de a resistência ser cruzada, afetando mais que um herbicida com o mesmo modo de ação, ou pior ainda, quando a resistência é múltipla e confere resistência a diferentes famílias químicas e pode mesmo manifestar-se a novos herbicidas que nunca foram sequer aplicados no campo (Rubin, 1991). Por outro lado, também podem surgir casos em que uma população, após adquirir resistência a um herbicida torna-se mais suscetível a outro(s), nesta situação estamos perante um caso de resistência cruzada negativa. Também existem casos mais graves de resistência múltipla em que as populações apresentam resistência cruzada em resultado da presença de mais de um mecanismo de resistência, na mesma planta (Calha, 2006). Segundo Dekker e Duke (1995) os mecanismos de resistência a herbicidas podem ser divididos em duas categorias: Resistência em que a molécula herbicida é excluída do local das plantas em que esta vai provocar a resposta tóxica (“*Non target site resistance* - *NTSR*”) e resistência em que um local de ação do herbicida se torna resistente (“*Target site resistance* - *TSR*”).

A primeira categoria engloba os seguintes mecanismos: i) Alteração na absorção do herbicida devido a traços morfológicos como a sobreprodução de ceras ou reduzida área foliar; ii) Alteração na translocação pela redução do transporte do herbicida pela via apoplástica e simplástica devido a várias modificações; iii) Compartimentação do herbicida em vários locais antes de chegar ao local de ação; iv) Desintoxicação metabólica do herbicida antes de chegar ao local de ação a uma taxa suficientemente rápida que a planta não morre.

A segunda categoria por sua vez divide-se em dois mecanismos: i) Alteração do local de ação de modo a deixar de ser suscetível ao herbicida. Este mecanismo de resistência é geralmente associado com a alteração da ligação entre o herbicida e a proteína ou enzima alvo provocada por uma mutação num nucleótido no gene que codifica a proteína à qual o herbicida

normalmente se liga, o que inibe a capacidade do herbicida de interagir e com a enzima alvo e a incapacitar; ii) Sobreprodução do local de ação que causa um efeito de diluição do herbicida, o que faz com que este, à dose normal, não seja capaz de inibir toda a enzima produzida. A enzima “poupada” continua com as atividades metabólicas normais da planta.

2.4.2. Mecanismos de resistência em *Echinochloa* spp.

No anexo 3, apresentam-se os mecanismos de resistência em *Echinochloa* spp. registados pelo International Survey of Herbicide Resistant Weeds na cultura de arroz.

Dos herbicidas com aplicação autorizada em Portugal, todos, exceto as substâncias ativas bentazona, cicloxidime, glifosato, MCPA e oxadiazão, estão associados a casos de resistência na cultura do arroz.

O Quadro 5 apresenta os grupos químicos dos herbicidas que, segundo a informação do Anexo 3, tiveram maior número de ocorrências de resistência, simples, cruzada e cruzada múltipla, em *Echinochloa* spp.

Os mecanismos de resistência simples mais frequentes no Quadro 5 são os mecanismos de resistência à inibição da enzima acetolactato sintetase (ALS) com 23 ocorrências e à inibição do fotossistema II, com 22 ocorrências, seguidos pelo mecanismo de resistência à inibição da enzima acetil CoA carboxilase (ACCase), com 20 ocorrências. Os restantes mecanismos de resistência, com muito menos expressão, não ultrapassam as nove ocorrências. De seguida aprofunda-se um pouco nos mecanismos de resistência a herbicidas inibidores da ALS e da ACCase, pois são os mecanismos que causam resistência a herbicidas como o penoxsulame e o profloridime, respetivamente.

O grupo químico de herbicidas com mais ocorrências de resistência são o grupo dos ariloxifenoxipropionatos, herbicidas inibidores da ACCase, e que inclui o cialfope-butilo (Clincher®), e o grupo das amidas, inibidores do fotossistema II, que inclui, por exemplo, o propanil, herbicida que já não está homologado em Portugal. Outros grupos químicos com fenómenos de resistência que incluem herbicidas com autorização de aplicar em Portugal são, por ordem decrescente de número de ocorrências, o grupo das quinolinas, com o herbicida quincloraque (Facet®), com 12 ocorrências, o grupo dos pirimidiniloxibenzóicos, com o herbicida bispiribace-sódio (Nominee®), com nove ocorrências, o grupo das triazolopirimidinas, com o herbicida penoxsulame (Viper®), com oito ocorrências, o grupo das imidazolinonas, com o herbicida imazamox (Pulsar40®), com sete ocorrências, o grupo das sulfonilureias, com o herbicida bensulfurão-metilo (Pull52®). Note-se que os últimos quatro grupos referidos contém herbicidas inibidores da ALS. Por fim, temos o grupo químico das glicinas, que inclui o glifosato (vários produtos), com uma ocorrência, e o grupo químico das benzotiadiazinonas, que inclui o herbicida bentazona (vários produtos) sem qualquer ocorrência.

Quadro 5. Grupos químicos de herbicidas com mais ocorrências de resistência no género *Echinochloa*. (Adaptado de Heap, 2015)

Grupo HRAC	Grupo Químico	Total	
		Grupo Químico	Modo de Ação
A	Ariloxifenoxipropionatos	22	24
	Ciclohexanodionas	2	
B	Pirimidiniloxibenzóicos	9	29
	Triazolopirimidinas	8	
	Imidazolinonas	7	
	Sulfonilureias	5	
C ₂	Amidas	22	
C ₃	Benzotiadiazinonas	0	
F3	Isoxazolidinonas	1	
E	Oxadiazonas	0	
G	Glicinas	0	
I	Ácidos fenil carboxílicos	0	
K ₃	Cloroacetamidas	3	
N	Tiocarbamatos	5	
O	Quinolinas	12	

Nota: Grupos sublinhados a cinzento contêm herbicidas que podem ser aplicados na cultura do arroz em Portugal.

Uma agravante da resistência é quando é detetada resistência múltipla, ou seja, casos em que há resistência a herbicidas com diferentes modos de ação. Segundo Heap (2015), há 21 casos de resistência múltipla em *Echinochloa* spp.. Em 15 desses casos a resistência múltipla abrange dois modos de ação diferentes, sendo que em 5 e 1 dos casos, a resistência abrange três e quatro modos de ação diferentes, respetivamente. A resistência cruzada mais recorrente é a resistência a herbicidas inibidores da enzima ALS (A), enquanto que a resistência múltipla mais recorrente é a resistência a herbicidas inibidores das enzimas ALS e ACCase (A/B). Todos os herbicidas com autorização para aplicar em Portugal na cultura do arroz, exceto as substâncias ativas bentazona, cicloxidime, glifosato, MCPA e oxadiazão, estiveram associados a casos de resistência múltipla, registados fora do país. De notar que 13 e 14 dos casos de resistência múltipla incluem resistência a inibidores da ACCase e ALS, respetivamente.

Resistência a herbicidas que inibem Acetolactato Sintase (ALS)

As moléculas de herbicida, quando presentes no cloroplasto, vão se ligar à enzima ALS e torná-la inativa, o que impede a síntese da leucina, isoleucina e valina (Stidham, 1991). O

primeiro caso de resistência a herbicidas inibidores da ALS foi um caso de resistência cruzada múltipla deu-se em *Lolium rigidum*, no sul da Austrália, em que foram detetados biótipos com resistência herbicidas com sete modos de ação diferentes (Heap, 2015). O primeiro caso de resistência a herbicidas do grupo químico das triazolopirimidinas, grupo químico a que pertence o penoxsulame foi em 1984 na espécie *Alopecurus myosuroides*, em que os biótipos analisados apresentaram resistência ao piroxsulame, entre outras substâncias ativas de outros grupos químicos. O primeiro caso de resistência em Portugal a herbicidas com este modo de ação, foi descoberto em 1995, em *Alisma plantago-aquatica* na cultura do arroz (Calha *et al.*, 1995). O primeiro caso de resistência a este tipo de herbicidas no género *Echinochloa* foi em 1998, em *Echinochloa colona*, na cultura do arroz. Neste caso foi detetada resistência múltipla, não só à substância ativa azimsulfurão, como também a substâncias ativas com outros dois modos de ação diferentes (Heap, 2015). Estudos efetuados em linhas suscetíveis e resistentes a sulfonilureias de alface (*Lactuca serriola*) revelaram que a resistência era causada por uma mutação pontual que resulta na substituição de prolina₁₉₇ por uma histidina no domínio A da enzima ALS (Eberlein, 1999). Pelo menos mais cinco aminoácidos foram identificados por conferirem resistência a inibidores da ALS, após substituição (Tranel & Wright, 2002). No Quadro 6 apresentam-se substituições de aminoácidos que podem conferir resistência e as suas repercussões aquando a exposição a herbicidas dos grupos químicos das sulfonilureias e das imidazolinonas.

Além da resistência por mutação também há os casos em que as infestantes adquirem uma capacidade superior de desintoxicar os herbicidas inibidores da ALS – resistência metabólica; o que faz com que adquiram resistência a herbicidas com vários modos de ação (Tranel & Wright, 2002). Estudos com inibidores (ex: inseticidas organofosforados) do complexo enzimático citocromo P₄₅₀ sugeriram que a degradação do herbicida por este complexo estava envolvido na resistência de *Echinochloa phyllopogon* a vários herbicidas de grupos químicos diferentes na Califórnia (Christopher *et al.*, 1994; Fischer *et al.*, 2000a; Gressel, 1990) na Ásia (Iwakami *et al.*, 2014) e na Austrália (Busi *et al.*, 2011).

O penoxsulame (triazolopirimidinas), embora inibidor da ALS, não pertence à família química das sulfonilureias e existem seis casos de resistência ao penoxsulame em *Echinochloa* spp., quatro em *E. crus-galli* subsp. *crus-galli*: França (2013), Itália (2005 e 2009) e Turquia (2009); um em *E. crus-galli* var. *formosensis*: Japão (2010); um em *E. oryzoides*: Turquia (2009); e um em *E. phyllopogon*: França (2013) (Heap, 2015).

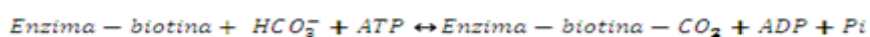
Quadro 6. Substituições de aminoácidos que podem causar resistência a herbicidas dos grupos químicos das sulfonilureias e das imidazolinonas, inibidores da enzima ALS. (Adaptado de Powles & Yu, 2010)

Aminoácido posição	e Substituição	Grupo Químico	
		Sulfonilureias	Imidazolinonas
Alanina ₁₂₂	Treonina	S	R
	Tirosina	r	R
Prolina ₁₉₇	Histidina	R	S/r
	Treonina	R	S/r
	Arginina	R	S
	Leucina	R	R/r/S
	Glutamina	R	S
	Serina	R	S
	Alanina	R	S
	Isoleucina	R	R
	Metionina	R	-
	Lisina	R	-
	Triptofano	R	-
Alanina ₂₀₅	Valina	r/S	R/r
Ácido Aspártico ₂₀₅	Ácido Glutâmico	R/r	R
Triptofano ₅₇₄	Leucina	R	R
	Arginina	R	R
Serina ₆₅₃	Treonina	S/r	R
	Asparagina	S/r	R
	Isoleucina	r	R
Glicina ₆₅₄	Ácido Glutâmico	-	R
	Ácido Aspártico	S	R

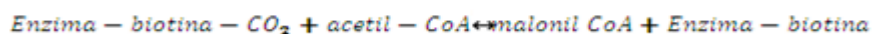
Resistência à Inibição da Acetil CoA Carboxilase (ACCase)

A ACCase é uma proteína biotinada multifuncional e, como referido anteriormente, está localizada no estroma dos tilacoides e cataliza a carboxilação do acetil CoA em malonil CoA, um precursor dos ácidos gordos, esta reação é dependente de ATP. A reação catalítica deste tipo de enzimas está dividida em duas reações parciais (Numa, 1984; Toh *et al.*, 1993; Tharayil-Santhakumar, 2003):

- a) **Carboxilação da biotina em CCP (*carboxyl carrier protein* – proteína transportadora do carboxilo):**



b) **Transcarboxilação, da biotina para uma molécula recetora:**



Os herbicidas que inibem esta enzima impedem a carboxilação da acetil CoA e, por conseguinte, a síntese de ácidos gordos. Os primeiros casos denunciados de resistência foram em 1982, em *Alopecurus myosuroides* no Reino Unido e em *Lolium rigidum* na Austrália. O primeiro dos casos foi de resistência cruzada com biótipos resistentes a 10 diferentes herbicidas. O segundo destes dois casos coincide com o primeiro caso de resistência a inibidores da ALS (Heap, 2015) mencionado anteriormente. Estes dois casos também foram os primeiros que incluíram herbicidas do grupo das ciclohexanodionas, grupo químico ao qual pertence o proflorizaxone. O primeiro caso de resistência a herbicidas inibidores da ACCase em *Echinochloa* spp. deu-se em 1994, na Costa Rica, e a espécie em causa foi *E. colona* cujos biótipos analisados apresentaram resistência ao herbicida fenoxaprop-p-etilo, do grupo químico dos ariloxifenoxipropionatos. Em Portugal ainda não há casos de resistência a herbicidas inibidores da ACCase. A resistência pode ser conferida por uma forma tolerante da ACCase. As experiências conduzidas por Gronwald *et al.* (1992) em *Lolium multiflorum* na Itália revelaram biótipos com este tipo de resistência com 130 vezes mais tolerância que biótipos suscetíveis. Esta resistência do local de ação é associado a uma mutação do gene que codifica a isoforma ACCase I. Nas gramíneas existem duas isoformas da ACCase – ACCase-I e ACCase-II. A ACCase I é predominante e é altamente suscetível aos herbicidas enquanto que, a ACCase-II, representando uma pequena fração da ACCase total, é resistente aos herbicidas (DePrado, 2000). Resistência a herbicidas que inibem a ACCase também pode surgir por sobreprodução da enzima, como verificado por Bradely *et al.* (2001) em *Sorghum halepense*.

2.4.3. Métodos de prospeção de resistência

Observações e Amostragem

Como foi referido anteriormente, a resistência adquirida aos herbicidas é a capacidade hereditária das plantas em sobreviver à dose de herbicida que anteriormente a controlava e faz-se representar pela perda de eficácia do herbicida responsável pelo seu controlo. Para a implementação de estratégias de controlo deste fenómeno há a necessidade de haver testes fiáveis para a sua deteção. Idealmente, estes testes devem ser rápidos, precisos, de baixo custo, prontos a usar e dar uma indicação fiável do provável impacto da resistência no campo. Para que sejam feitos estes testes é necessária uma boa observação do campo e uma colheita de sementes representativa. Uma precisa observação do campo é importante para a deteção de qualquer redução de eficácia do herbicida, o que pode indicar o desenvolvimento de resistência, no entanto, antes de se assumir que se está perante um desses, deve-se eliminar todas as outras causas de perda de eficácia, que incluem: i) Fatores de aplicação do herbicida (dose ou época inapropriadas e falhas de aplicação, etc.); ii) Condições do solo (humidade do

solo, preparação do solo, adsorção, etc.); iii) Condições climáticas (chuva, temperatura, etc.); iv) Fatores das infestantes (tamanho das infestantes, germinações, grau de infestação, etc.).

Embora seja raramente possível confirmar a resistência unicamente com base nas observações de campo há fatores que podem apontar nessa direção como o nível de controle de outras espécies suscetíveis ao herbicida, ou seja, se essas forem eficientemente controladas a resistência é uma forte possibilidade. A presença de plantas vivas no meio de plantas mortas pode indicar a presença de indivíduos resistentes mas também pode ser causada por uma variação dos estádios de crescimento. A experiência prévia também pode indicar a possível presença de resistência, ou seja, se as espécies sobreviventes têm sido controladas com sucesso pelo mesmo tratamento no passado ou se houve um declínio gradual da eficiência dos tratamentos ao longo dos anos, o desenvolvimento da resistência pode ser a causa. Também o histórico dos herbicidas pode ser um indicador do desenvolvimento de resistência, o uso repetido do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo modo de ação favorece a seleção de indivíduos com resistência. A ocorrência de resistência da mesma espécie envolvendo o mesmo tipo de herbicida em campos próximos faz com que aumenta a probabilidade de haver resistência envolvida na perda de eficácia no campo observado (Moss, 1999).

Se houver suspeitas de haver resistência numa dada parcela, devem ser efetuadas colheitas de amostras, de sementes ou de plantas, das populações em causa, para que possam ser feitos testes de confirmação. A fiabilidade dos testes efetuados está altamente dependente da qualidade das amostras colhidas. Amostras de baixa qualidade terão, frequentemente, uma baixa percentagem de germinação e produzir plantas fracas com respostas variáveis aos herbicidas. Para que as amostras sejam de boa qualidade há regras que devem ser seguidas: i) Colher sementes quando a maioria está madura; ii) Colher sementes de uma área de pelo menos 100 por 50 metros dentro da área afetada, a não ser que o problema esteja confinado a uma área menor. Devem-se evitar áreas em que obviamente não houve pulverização pois a amostra deve ser representativa do problema da parcela; iii) Não colher em condições húmidas pois a colheita é dificultada e, em algumas espécies, as sementes podem entrar em dormência; iv) Armazenar e transportar as sementes em envelopes de papel, o que vai impedir as sementes de se “colarem” devido à humidade. Identificar o envelope com o nome da parcela e da propriedade e a data de colheita; v) Secar as sementes ao ar livre o mais rapidamente possível após a colheita; vi) Limpar as amostras para remover sementes de baixa qualidade (a melhor metodologia varia com as espécies) (Moss, 1999).

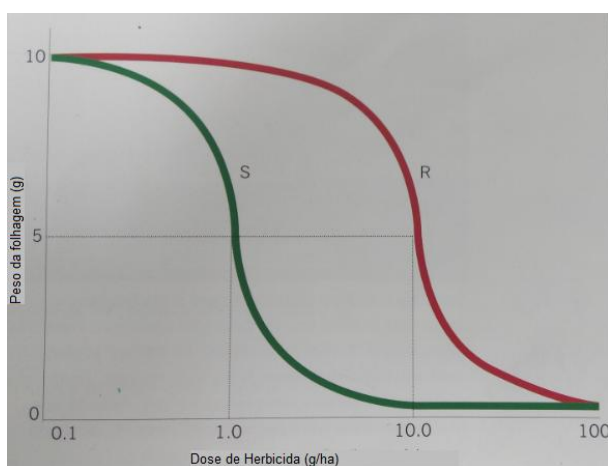
Testes de Resistência

Os testes mais utilizados para o estudo da resistência envolvem o crescimento de plantas das sementes que foram colhidas da parcela suspeita e pulverizá-las com herbicida,

quer seja uma dose única ou uma gama de doses. Estes ensaios são normalmente conduzidos em estufa ou em câmara com ambiente controlado. Posteriormente faz-se a observação da mortalidade, do vigor da planta ou medições do peso verde ou seco da folhagem. É essencial para todos os testes deste tipo que haja o estabelecimento de uma população suscetível de referência, sendo preferencial o estabelecimento de mais que uma população suscetível de referência. Isto vai fornecer informação sobre a gama de respostas aos herbicidas. Em certos casos isto é efetuado com um ensaio de germinação em placa de Petri seguido de medição da germinação das sementes e da crescimento de uma estrutura vegetal (radícula, coleóptilo, epicótilo), como efetuado por Senero *et al.* (2011) e Moreno (2004). Análise estatística deve ser realizada de modo a assegurar o delineamento experimental é o mais apropriado (Moss, 1999).

Ensaio Dose-Resposta

Em ensaios iniciais é preferível usar uma gama de doses para a obtenção de uma curva de dose-resposta (Figura 14). Isto permite uma melhor aferição do grau de resistência e calcular o rácio das doses necessário para provocar o mesmo efeito nas plantas resistentes e suscetíveis (índice de resistência).



Assim que a informação sobre a dose-resposta seja obtida é possível o uso de apenas uma (ou mais) concentração discriminatória em futuros ensaios de prospeção, o que vai permitir o rastreio de mais populações, uma vez que com menos doses, são precisos menos vasos que podem ser aproveitados para mais populações (Moss, 1999).

Figura 14. Exemplo de uma curva de dose resposta. (Fonte: Moss, 1999)

Outros métodos de prospeção

Outros métodos de prospeção foram sendo desenvolvidos para detetar formas específicas de resistência. Estes incluem testes usando plantas recolhidas na parcela, ensaios de germinação em placas de Petri, ensaios de fluorescência da clorofila, flutuação de discos de folha (Vidal *et al.*, 2006) e ensaios de sensibilidade de enzimas, prospecção dirigida de mutações, cada vez mais utilizado – mas é necessário conhecer o mecanismo de resistência. No entanto, os ensaios em vaso em estufa permanecem como os mais apropriados pois apresentam as condições edafoclimáticas e de aplicação de herbicida mais próximas das que se verificam no campo (Moss, 1999).

2.4.4 – Controlo e prevenção

A prevenção do fenómeno da resistência aos herbicidas passa pela redução da pressão de seleção de resistência a que as infestantes são sujeitas. Para isto, é importante que se considere as aplicações fitossanitárias como uma ferramenta a utilizar em último caso, ou seja, quando já não é possível manter a população de infestantes a um nível que não seja nefasto para a cultura por via de medidas preventivas e/ou culturais, como referido no capítulo 2.2. Mesmo que seja necessário, em último caso, recorrer a aplicações de herbicidas também há recomendações que devem ser seguidas de modo a reduzir a pressão de seleção como a aplicação do herbicida na dose, época de aplicação, estado fenológico da cultura e das infestantes recomendados nos rótulos. Embora muitas vezes o controlo químico possa ser feito com doses inferiores às rotuladas, não se recomenda que se use doses menores que as indicadas, uma vez que estas doses podem permitir a sobrevivência de uma fração das infestantes, o que contribui para a acumulação gradual de alelos resistentes e, por conseguinte, para o desenvolvimento de resistência metabólica (Busi & Powels, 2009; Norsworthy *et al.*, 2012). A alternância de herbicidas, embora por si não seja suficiente para prevenir o desenvolvimento de resistência, deve ser aplicada em conjugação com outros métodos. É importante que se evite o uso contínuo do mesmo herbicida ou de herbicidas com o mesmo modo de ação durante a campanha ou várias campanhas seguidas. Também se aconselha o uso de herbicidas não seletivos para controlar as infestantes antes da emergência da cultura (HRAC, 2015). O uso de herbicidas persistentes leva a que a pressão de seleção seja maior (Tharayil-Santhakumar, 2003).

As misturas de herbicidas podem ser um recurso útil à gestão e prevenção do estabelecimento de infestantes resistentes. Para estas serem eficientes, devem incluir substâncias ativas que tenham bons níveis de controlo da infestante alvo e essas substâncias ativas devem ter diferentes modos de ação. As duas substâncias ativas devem ter persistência similar, ou então haverá períodos em que as infestantes estarão expostas apenas a uma das substâncias e as estas não deverão ser degradadas do mesmo modo. É um bónus se as infestantes tiverem resistência negativa e se use uma mistura com a substância à qual as infestantes adquirem maior sensibilidade (Wrubel and Gressel, 1994; HRAC, 2015).

A rotação de culturas faz com que o programa de controlo químico das infestantes seja diferente, o que vai dificultar o desenvolvimento de resistência (Tharayil-Santhakumar, 2003). No entanto, dado o modo de produção em Portugal, é muito difícil fazer rotação com a cultura do arroz.

No caso de a resistência já estar confirmada, o HRAC (2015) propõe uma gama de opções a considerar para limitar a produção de semente resistente e a sua propagação: i) Eliminar o remanescente da população infestante se esta estiver a crescer em “manchas”; ii)

Limitar a propagação de parcela para parcela efetuando a limpeza do equipamento de preparação do solo, sementeira, colheita, etc.; iii) Evitar usar o herbicida ao qual a resistência foi confirmada, exceto se em conjugação com herbicidas que tenham outro modo de ação ao qual as infestantes não sejam resistentes; iv) Se a resistência já estiver muito alastrada pela parcela, considerar cortar as plantas para alimentação animal mas com o cuidado de não propagar sementes através do estrume; v) Selecionar as parcelas com resistência para rotação cultural ou pousio.

III – Atividade Experimental

3.1. Material e Métodos

3.1.1. Material Vegetal

A prospeção de resistência adquirida aos herbicidas aplicados na cultura do arroz foi feita em 13 populações de *Echinochloa* spp., cujas amostras de sementes foram colhidas em canteiros de arroz nas bacias hidrográficas do Tejo e do Sorraia, mais concretamente nos concelhos de Benavente, Coruche e Salvaterra de Magos, quatro das populações (ECH1B, ECH2B, ECH3B e ECH4B) foram colhidas no dia 3 de Outubro de 2014 e as restantes (ECH1, ECH2, ECH3, ECH4, ECH5, ECH6, ECH7, ECH8 e ECH9) foram colhidas a 24 de Outubro de 2014.

3.1.2 Identificação das espécies

A identificação das espécies de *Echinochloa* spp. foi desenvolvida através de uma análise biométrica das cariopses (Medina, 2005) recorrendo ao software Smartgrain (Tanabata *et al.*, 2012).

O princípio do método passa pela análise de imagem para reduzir o tempo investido na preparação das sementes e na captura de imagem (digitalização ou fotografia de sementes). Os esboços das sementes são automaticamente reconhecidos nas imagens digitais e vários parâmetros, designadamente o comprimento, a largura, a área e o perímetro da semente são calculados, como ilustra a Figura 15, adaptada de Tanabata *et al.* (2012). Todas as amostras foram analisadas individualmente exceto a amostra ECH3B, uma vez que continha sementes aristadas e não aristadas, tendo sido dividida em duas subamostras, ECH3Ba (aristadas) e ECH3Bb (não aristadas). Foi necessário adaptar a metodologia proposta por Tanabata *et al.* (2012) para permitir a medição da arista da semente, dado que o software não distingue a semente da arista.

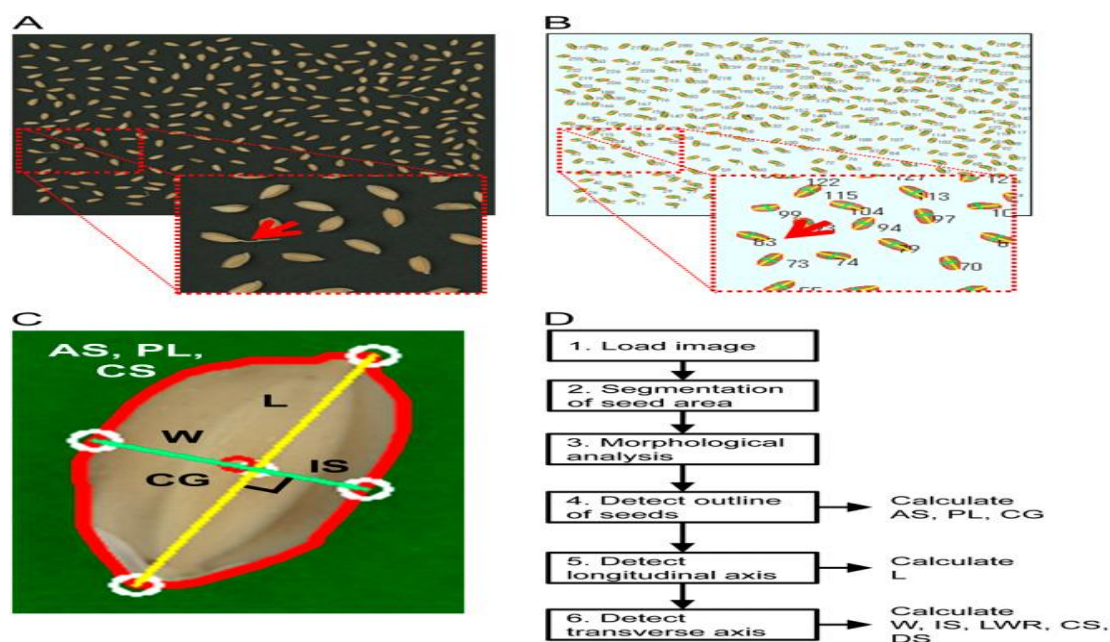


Figura 15. Metodologia do *software* Smartgrain: A – Imagem das cariopses no *scanner* (seta vermelha indica a arista); B – Reconhecimento das cariopses pelo *software*; C – Parâmetros de forma da cariopse, em que a linha vermelha contém as informações a área (AS), perímetro (PL) e circularidade (CS) da cariopse, a linha amarela representa o comprimento (L) da cariopse, a linha verde representa a largura (W) da cariopse, o círculo branco central representa a interceção entre o comprimento e a largura (IS) e o círculo vermelho representa o centro de gravidade; D – Algoritmo para a análise de imagem e para a medição do perfil da semente: 1. Carregamento da imagem; 2 – segmentação da área da cariopse; 3 – análise morfológica; 4 – detecção do contorno da semente (cálculo de AS, PL e CG); 5 – detecção do eixo longitudinal (cálculo do L); 6 – detecção do eixo transversal [cálculo de W, IS, CS, da razão L/W (LWR) e da distância entre o IS e o CG (DS)] (Tanaba *et al.*, 2012)

Conjugando o comprimento médio da cariopse e o comprimento médio das aristas com as outras informações constantes do Quadro 7., adaptado de Medina (2005) foi possível identificar as espécies de *Echinochloa* das populações em estudo.

Quadro 7. Características de várias espécies do género *Echinochloa* spp. (Adaptado de Medina (2005))

Espécie / / Características	<i>E. phyllopogon</i>	<i>E. oryzoides</i>	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>crus-galli</i>
PULVINO (entre bainha e limbo)	Com pelos longos	Sem tufo de pelos	Com pelos longos	Sem tufo de pelos
ESPIGUETA	> 3,5-4 x 2 mm	≥ 4 mm	< 3,5-4 x 2 mm	< 4mm
ARISTAS	< 10 mm (a maioria)	10-25 mm (podem atingir 50 mm)	1 - 25 mm (maioria ronda os 10 mm)	Muito variáveis

3.1.3. Teste de quebra de dormência

O objetivo deste ensaio consistiu em aferir o melhor tratamento para quebrar a dormência e aferir o mecanismo de dormência das sementes de *Echinochloa* spp.

Do total de 13 populações de sementes de *Echinochloa*, selecionou-se a população ECH5 (Anexo 2), por ter com maior número e peso de sementes. De acordo com a bibliografia selecionaram-se três tratamentos, polietilenoglicol (PEG), ácido sulfúrico (H_2SO_4) e ácido giberélico (GA_3) (Jones, 1999; Yamaguchi & Kamiya, 2002; Costa & Villela, 2006; Pereira *et al.*, 2008).

Os ensaios foram efetuados em placas de Petri onde se colocaram 50 sementes por placa no caso do tratamento com ácido sulfúrico e 25 sementes por placa para os restantes tratamentos. Foram feitas duas repetições. O pré-tratamento com H_2SO_4 (98%) passou pela imersão das sementes durante 30 segundos e o pré-tratamento com PEG passou pela imersão das sementes em 20 mL de PEG a 2% durante quatro horas seguidas de 20 horas de obscuridade. O tratamento com ácido giberélico foi aplicado às sementes na placa de Petri com uma desinfecção prévia com hipoclorito de sódio (3%) e lavagem com água corrente. O delineamento dos ensaios de germinação está descrito no Quadro 8. Após os 13 dias mediu-se o período de latência, ou seja, o período até às primeiras germinações, a velocidade de germinação, ou seja, o número de sementes germinadas por dia e a capacidade germinativa final após os 13 dias do estudo.

Quadro 8. Delineamento dos ensaios de germinação.

Tratamento	Dados do tratamento		Dados da lavagem		Substrato das placas de Petri	Desenvolvimento em câmara de crescimento		
	Concentração (%)	Tempo	Lavagem	Tempo (s)		Temp. (°C)	HR (%)	Luz (h)
PEG	2	4h	Sim (a seco)	-	10 mL de KNO_3 a 0,2%	23	60	12
H_2SO_4	98	30 seg.	Sim (água)	155	10 mL KNO_3 a 0,2%	23	60	12
GA_3	0.01	-	Sim	60 (hipoclorito de sódio) + 60 (água)	10 mL de KNO_3 a 0,2% + 5mL de GA_3 a 0.01%	23	60	12

3.1.4 Avaliação de resistência

O objetivo deste procedimento foi o de detetar eventuais resistências à substância ativa penoxsulame (família química das triazolopirimidinas). Para avaliar o efeito do penoxsulame avaliou-se a taxa de germinação, e mediu-se o comprimento da radícula e do coleóptilo, nas amostras referidas anteriormente.

Foram realizados seis ensaios, cada um com duas populações (Quadro 9). Todos os ensaios foram realizados nas mesmas condições com cinco modalidades e duas repetições. As modalidades correspondem às concentrações de penoxsulame de 0 mg L⁻¹ (testemunha); 1 mg L⁻¹; 10 mg L⁻¹; 100 mg L⁻¹; 1000 mg L⁻¹. Utilizou-se o produto comercial (p.c.) VIPER (20 g L⁻¹ s.a., OD, Dow/Lusosem). As sementes, 50 por placa de Petri no primeiro ensaio e 25 nos restantes, foram previamente tratadas com ácido sulfúrico, seguindo o procedimento do ensaio de germinação. Foram preparadas, tal como no estudo de germinação, uma solução de KNO₃ (0,2%) só que para este estudo prepararam-se também quatro soluções de herbicida com as concentrações já referidas. Na modalidade testemunha colocaram-se 5 mL de solução de KNO₃ e nas restantes modalidades 5mL da solução herbicida correspondente.

Quadro 9. Populações abrangidas e data de cada uma das aplicações de penoxsulame.

Ensaio	Populações	Data de início do ensaio
1	ECH2 e ECH5	09/02/2015
2	ECH1 e ECH7	16/02/2015
3	ECH1B e ECH2B	23/02/2015
4	ECH8 e ECH9	02/03/2015
5	ECH3 e ECH6	09/03/2015
6	ECH4 e ECH4B	16/03/2015

Por fim, as placas de Petri foram colocadas na câmara de crescimento (Aralab Climatic Chamber, Fitoclima S600PLH) durante sete dias, à temperatura de 23°C, humidade relativa de 60% e 12 horas de luz diárias. Após esse período de tempo, retiraram-se as placas da estufa, contou-se o número de sementes germinadas por modalidade e mediu-se individualmente o comprimento da radícula e do coleóptilo das sementes.

3.1.5. Dose-resposta com planta inteira em estufa

O objetivo deste procedimento foi o de corroborar os resultados da prospeção de resistência em placa de Petri, bem como de ajudar a perceber melhor o eventual mecanismo de resistência. Para isso, fizeram-se registos da mortalidade e do peso verde das amostras, após aplicação do herbicida.

O procedimento constou de três estudos e seis ensaios, cada um com um objetivo diferente e constava de dois ensaios cada, com 3 a 4 populações – Quadro 10. No estudo 1, para avaliação da resistência ao penoxsulame (Viper®, 20 g L⁻¹ s.a., Dow/Lusosem), os ensaios apresentaram 11 modalidades. No estudo 2, aplicou-se a substância ativa profoxidime (Aura®, 200 g L⁻¹ s.a., EC, Basf), que é inibidor da enzima acetil-coA carboxilase (ACCase), para detetar um eventual resistência múltipla. O ensaio conteve oito modalidades. No estudo 3 aplicou-se penoxsulame com uma aplicação prévia de clorpirifos (Dursban 4®, 480 g L⁻¹ s.a., SC, Dow/Lusosem), que é um inibidor do citocromo P₄₅₀, um sistema enzimático responsável pela maior capacidade de degradação de substâncias ativas da família química das sulfonilureias em *Lolium rigidum* (Preston *et al.*, 1996) e pela resistência ao bispiribace-sódio

em populações de *Echinochloa phyllopogon* (Fischer *et al.*, 2000b). O número de repetições em cada população de cada ensaio variou consoante a disponibilidade de plantas.

Quadro 10. Descrição dos ensaios de dose-reposta com planta inteira em estufa, a diferentes herbicidas.

Estudo (objectivo)	Ensaio	Populações (nº de repetições)	Herbicida	Modalidades**
1* (deteção de resistência ao penoxsulame)	1	ECH1 (4), ECH5 (4) e ECH8 (3)	penoxsulame (Viper®, 20 gL ⁻¹ s.a., OD, Dow/LusoSem)	T, 1,25 g/ha (1/32N), 2,5 g/ha (1/16N), 5 g/ha (1/8N), 10 g/ha (1/4N), 20 g/ha (1/2N), 40 g/ha (1N), 80 g/ha (2N), 160 g/ha (4N), 320 g/ha (8N) e 640 g/ha (16N)
	2	ECH5 (1), ECH6 (5), ECH7 (3) e ECH4B (3)		
2 (deteção de resistência cruzada)	3	ECH6 (3), ECH7 (2) e ECH4B (3)	profoxidime (Aura®, 200 gL ⁻¹ s.a., EC, Basf)	T, 6,25 g/ha (1/16N), 12,5 g/ha (1/8N), 25 g/ha (1/4N), 50 g/ha (1/2N), 100 g/ha (1N), 200 g/ha (2N) e 400 g/ha (4N).
	4	ECH1 (2), ECH5 (3) e ECH8 (3)		
3 (Deteção de ação do citocromo P ₄₅₀)	5	ECH1 (4), ECH6 (4), ECH7 (2) e ECH4B (4)	penoxsulame (Viper®, 20 gL ⁻¹ s.a., OD, Dow/LusoSem)	T, T _c (testemunha com aplicação de clorpirifos), 40 g/ha (1N) e 40 g/ha (1N _c) (com aplicação de 1000 g/ha de clorpirifos)
	6	ECH1 (3), ECH5 (5) e ECH8 (3)	[aplicação prévia de clorpirifos (Dursban 4®, 480 gL ⁻¹ s.a., SC Dow/Lusosem)]	

*- No estudo 1, aplicou-se na população 1 e na população 5 (ensaio 2) as doses desde 1,25 a 80 g/ha, nas restantes populações aplicou-se a gama de doses desde 10 até 640 g/ha. Esta opção foi tomada em função dos resultados do ensaio de prospeção de resistência.

**- N – dose de campo; considerou-se para o penoxsulame 40 g ha⁻¹ e para o profoxidime 100 g ha⁻¹.

Os ensaios decorreram principalmente na estufa do INIAV em Oeiras, mas também houve uma parte que se desenrolou no Laboratório de Herbologia. A parte no laboratório passou pela preparação das soluções herbicida, pelo tratamento das sementes com ácido sulfúrico para a quebra da dormência (igual ao procedimento do estudo de germinação e do estudo de prospeção de resistência) e pela pesagem das plantas no fim dos ensaios.

Na estufa, durante o período entre 31 de Março e 5 de Julho, as temperaturas variaram entre os 11,6°C às 8h da manhã do dia 20 de Abril e os 45,6°C às 16h do dia 27 de Junho de 2015. Em Abril, o mês mais frio, a temperatura variou entre os 11,6°C já indicados e os 33,6°C e a temperatura média foi de 19,4°C. No mês mais quente, o de Junho, as temperaturas oscilaram entre os 16,1°C e os 45,6°C enquanto que a temperatura média foi de 24,8°C (os dados das temperaturas durante o período em que se desenvolveram os ensaios estão apresentadas no Anexo 4).

No primeiro estudo, as plantas obtiveram-se através de sementeira em tabuleiro (Figura 16) seguido de transplante para vasos (Figura 17 e 18). Transplantaram-se cinco plantas para cada vaso. Nos outros dois estudos as plantas obtiveram-se por sementeira diretamente nos vasos (Figura 19), uma vez que se notou algum efeito nefasto da transplantação nas plantas.

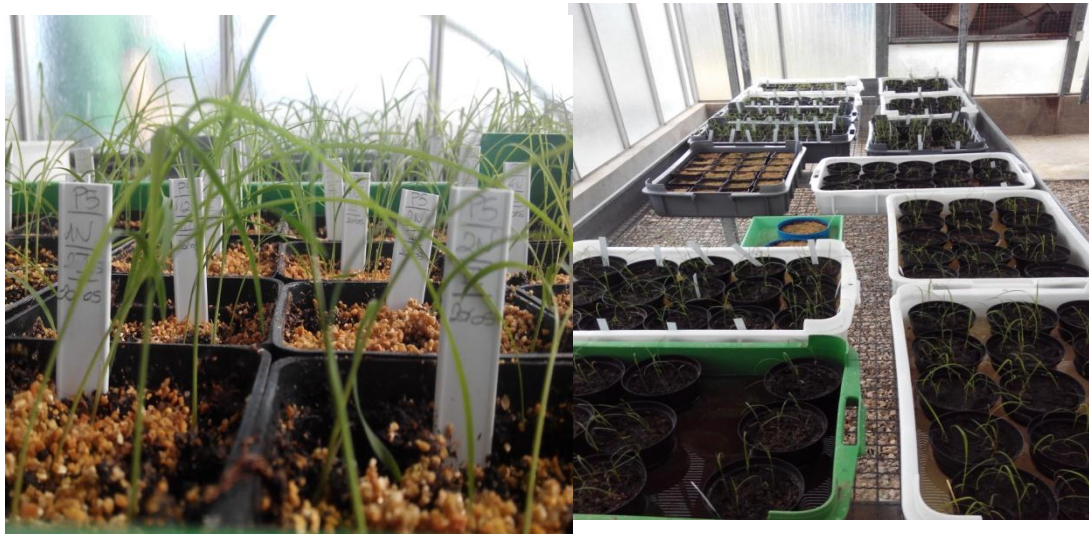


Figura 16. Tabuleiro com plântulas da população 5 no ensaio 1.



Figura 17. Vasos com plântulas da população ECHH11, após o transplante, no ensaio 1.

Antes da sementeira, todas as sementes foram tratadas com ácido sulfúrico, como descrito no ensaio de germinação. O substrato em que se fez a sementeira era composto por turfa e areia, numa razão de 8:3 e por 100 mL de grânulos de adubo 15+6+12(+2+22,5) (Blaukorn®).



Figuras 18 e 19. Disposição do material vegetal após o transplante (Ensaio 1 e 2) e sementeira (Ensaio 3, 4, 5 e 6).

Neste conjunto de estudos foram abrangidas seis populações de *Echinochloa* spp.: uma população suscetível de referência (ECHPH1) e cinco suspeitas de serem resistentes ao penoxsulame (ECHPH5, ECHPH6, ECHHI1, ECHHI2 e ECHHI4). Estas populações foram escolhidas em função dos resultados obtidos na prospeção de resistência.

Quanto às aplicações dos herbicidas, primeiro começou-se por fazer um ensaio em branco, utilizando o pulverizador OPS (Oxford Precision System) (Figura 20), com água, com o objetivo de saber a área tratada por uma passagem de pulverizador e o respetivo débito. Esta informação é pertinente para os cálculos de preparação das soluções de herbicida.

No quadro 11 representa-se a calendarização dos ensaios bem com o estado fenológico em que se encontravam as plantas quando a aplicação foi efetuada.

Quadro 11. Calendarização dos ensaios com planta inteira em estufa assim como o estado fenológico das plantas aquando a aplicação.

Estudo	Ensaio	Sementeira	Transplantação	Herbicida	Aplicação	Estado fenológico (BBCH)	Peso verde
1	1	13/04	24/04	penoxsulame	12/05	13-14	01/06
	2	20/04	27/04		14/05	13-14 (ECHHI1, ECHHI2 e ECHPH5) e 14-15 (ECHHI4)	03/06
2	3	28/04	-	profoxidime	18/05	13-14	09/06
	4	03/05	-		20/05	12-13	11/06
3	5	14/05	-	penoxsulame (aplicação prévia do inseticida clorpirifos)	05/06	13-14 (ECHPH1, ECHHI2 e ECHPH5) e 12-13 (ECHHI4)	03/07
	6	25/05	-		09/06	12-13	07/07

Para o estudo de resistência ao penoxsulame (ensaios 1 e 2) o herbicida foi aplicado numa gama de nove doses, desde 1,25 g/ha (1/32N) até 360 g/ha (16N). No estudo de resistência cruzada ao profoxidime (ensaios 3 e 4) o herbicida foi aplicado numa gama de sete doses, desde 6,25 g/ha (1/16N) até 400 g/ha (4N). As plantas testemunha foram mantidas nas mesmas condições que as restantes só que sem aplicação de herbicida. No estudo de resistência metabólica (ensaios 5 e 6) 30 minutos antes da aplicação de penoxsulame (dose N = 40 g/ha), fez-se uma aplicação de clorpirifos (1000 g/ha).

Todos os produtos fitofarmacêuticos foram aplicados com o pulverizador calibrado para um débito de 193 L/ha, com uma pressão de 405,2 kPa com um bico em leque. As doses foram preparadas com diluições de 2:1 partir da solução 16N para o penoxsulame em que se usou 16,58 mL de produto comercial para um solução de 100 mL e 4N para o profoxidime em que se usou 1mL de produto comercial. Às soluções de profoxidime adicionou-se 0,5% de adjuvante Dash® o que correspondeu a 0,5 mL de adjuvante para a solução de 100 mL com dose mais baixa (6,25g/ha – 1/16N) que não foi diluída e de 0,25 mL para as restantes de 50 mL que foram diluídas.



Figuras 20. Equipamento pulverizador e botija de ar comprimido.

Na pesagem, pesaram-se três plantas por vaso, dado que nem todos os vasos cumpriam o objetivo inicial de ter cinco plantas por vaso, pesaram-se apenas três plantas por vaso de modo a uniformizar as repetições.

3.1.6. Inventários florísticos

Efetuaram-se 100 inventários em canteiros de arroz. O primeiro inventário foi feito no dia 4 de Agosto de 2015 e o último no dia 4 de Setembro de 2015. Os inventários foram feitos após as aplicações de herbicidas e quase todos feitos no Concelho de Coruche, sendo que dois foram feitos na aldeia de Granho e sete foram feitos no COTarroz (Centro Operativo e Tecnológico do Arroz), ambos no Concelho de Salvaterra de Magos. O objetivo da realização destes inventários foi o de ver quais as infestantes mais disseminadas pela zona orizícola abrangida.

Na figura 24 está apresentado um mapa, da zona em que foram efetuados os inventários. cada bola colorida corresponde à zona onde foram efetuados alguns dos inventários e, na legenda, sobre as cores correspondentes estão os números dos inventários que foram feitos. No Anexo 5 apresentam-se as datas e as coordenadas geográficas dos inventários. A metodologia passou pela realização de um inventário por canteiro, com entrada

de mais ou menos 3-4 metros dentro do canteiro e registo das espécies encontradas e da sua abundância segundo a escala de Barralis (1976), recolha de plantas que não se conseguia indentificar prontamente e registo das coordenadas geográficas e data. A identificação das plantas foi feita com o auxílio da seguinte bibliografia: Franco & Afonso (1998), DuPont (2002), Viggiani *et al.* (2003), Medina (2005) e Rescagens & Conesa (2009). Após a identificação de todas as plantas procedeu-se ao cálculo da abundância média e da frequência relativa, cruzando-se os dois resultados com o quadro 12 para aferir o grau de infestação de cada uma das espécies.

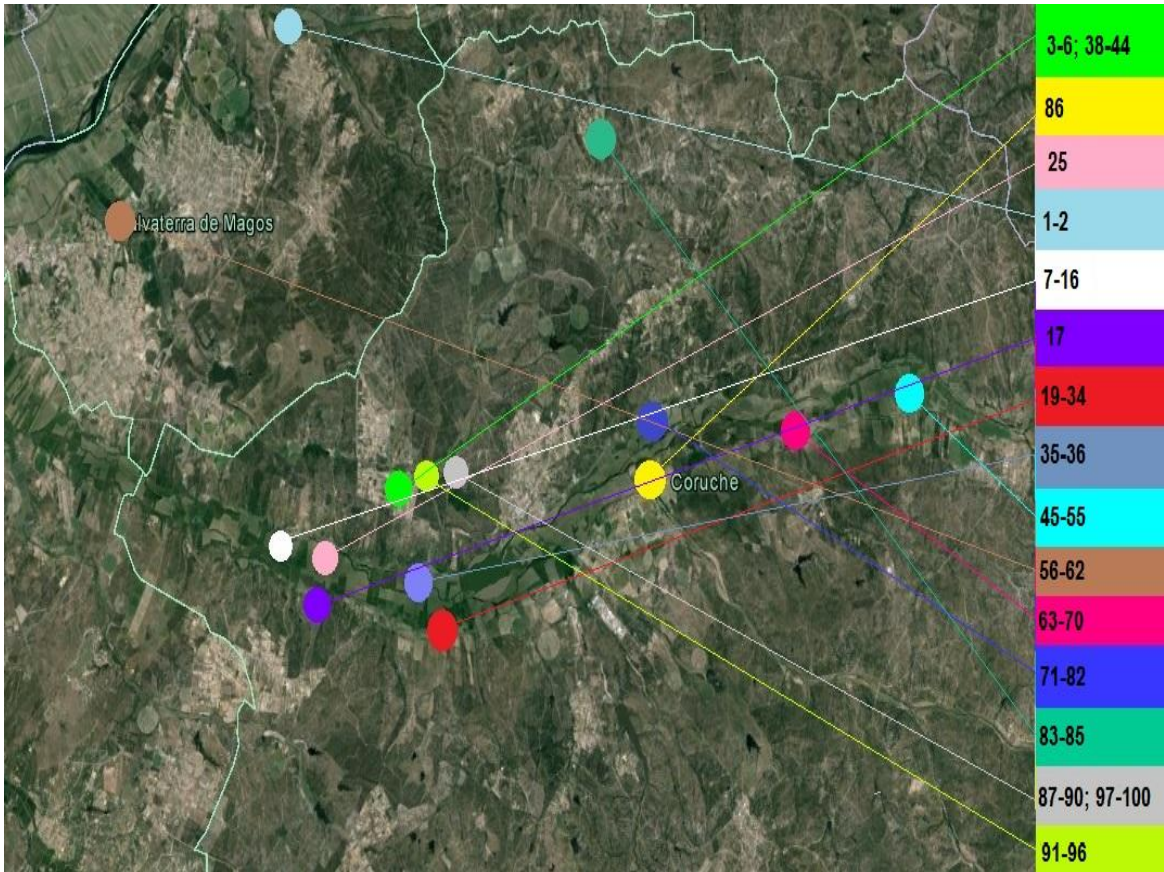


Figura 21. Mapa da zona dos Concelhos de Coruche e Salvaterra de Magos em que foram realizados os levantamentos. Cada bola colorida corresponde a uma zona em que foram realizados um conjunto de levantamentos. Na legenda à direita da figura estão os levantamentos correspondentes a cada zona colorida.

Quadro 12. Infestação de acordo com a frequência relativa (%) e a abundância média (nº plantas/m²) (Michez & Guillerm, 1984).

Abundância média (nº plantas/m²)	Frequência relativa (FR) (%)		
	<25	25-50	>50
1: <1	0	+	++
2: 1-2	+	++	+++
3: 3-20	++	+++	++++
4: 21-50			
5: >50		+++	++++

0: muito baixa; +: baixa; ++: média; +++: alta; ++++: muito alta.

3.1.7 - Análise de dados

Nos testes de avaliação de resistência, recorreu-se a uma análise ANOVA a um fator, por um teste de comparação de médias de Tukey e pela aplicação de uma regressão não linear, modelo log-logístico com três parâmetros ($Y = \frac{d}{1 + \exp[b(\log x - \log e)]}$) que permitiu estimar o valor de EC_{50} (Knezevic *et al.*, 2007), ou seja, a concentração capaz de provocar a morte a 50% da população.

No estudo de dose-resposta, para os dois primeiros ensaios, a análise estatística passou por uma análise ANOVA a um fator, por um teste de comparação de médias de Tukey e um regressão não linear, modelo log-logístico com quatro parâmetros ($Y = c + \left\{d - \frac{c}{1 + \exp[b(\log x + \log e)]}\right\}$) que permitiu estimar o valor do ED_{50} (Knezevic *et al.*, 2007), ou seja, a dose de herbicida capacidade de provocar a morte a 50% da população.

Para todas estas análises foi utilizado o software R (R Core Team, 2013), com os packages “drm” e “drc” (regressão não linear) e “easyanova”.

Para o terceiro ensaio do estudo de dose-resposta com planta inteira, em que se testou a existência de resistência metabólica ao penoxsulame, foi feita uma comparação e médias de Tukey, tendo se recorrido ao software R.

3.2. Resultados e Discussão

3.2.1. Identificação das espécies

No Quadro 13 apresentam-se os valores médios para o comprimento e largura das espiguetas e das aristas das sementes de *Echinochloa* spp. de cada amostra. A identificação de cada espécie foi definida com base no cruzamento das médias com a informação recolhida por Medina (2005) e referida no Quadro 7.

Quadro 13. Identificação das espécies de *Echinochloa* spp. por população com base nas características biométricas das espiguetas e aristas.

Amostras	Espiguetas /Arista	Comprimento (mm)	Largura (mm)	Espécie
ECH1	Espiguetas	4.630	2.197	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	2.892	0.762	
ECH2	Espiguetas	4.408	2.250	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	2.986	0.813	
ECH3	Espiguetas	4.424	2.185	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	2.708	0.623	
ECH 4	Espiguetas	4.943	2.464	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	4.127	0.850	
ECH 5	Espiguetas	3.561	2.084	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>
	Arista	Sementes não aristadas		
ECH 6	Espiguetas	3.587	2.093	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>
	Aristas	1.797	0.718	
ECH 7	Espiguetas	4.439	2.207	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	4.102	0.713	
ECH 8	Espiguetas	4.140	2.004	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	3.357	0.733	
ECH 9	Espiguetas	4.062	2.112	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	3.302	0.715	
ECH 1B	Espiguetas	4,113	1,936	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	2,181	0,53	
ECH 2B	Espiguetas	4,253	1,943	<i>E. phyllopogon</i>
	Aristas	2,242	0,510	
ECH 3Ba	Espiguetas	3.316	1,817	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>crus-galli</i> ou <i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i> *
	Aristas	20,883	0,883	
ECH 3Bb	Espiguetas	2,898	1,569	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>
	Aristas	1,304	0,476	
ECH 4B	Espiguetas	3,738	1,933	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>
	Aristas	2,698	0,586	

*Depende se tem pelos (*E. crus galli* subsp. *hispidula*) ou não (*E. crus-galli* subsp. *crus-galli*) no pulvino.

No quadro 14 apresentam-se as espécies de cada população bem como a designação adoptada para cada amostra para o remanescente deste trabalho, adaptada do código Bayer (OEPP, 2015).

Pela análise dos quadros 13 e 14, conclui-se que o táxone presente em nove das populações é *Echinochloa phyllopogon* (Stapf.) Koss. Seguido pelo táxone *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (Retz.) Honda que está representado em pelo menos quatro das populações. No caso da população ECH3Ba, as suas medições biométricas enquadram-se em dois táxones diferentes, uma vez que apresenta um comprimento da espiguetta inferior a 3,5 mm e o comprimento das aristas também não permite pôr de parte nenhum dos táxones. Para se saber o táxone exato seria necessário cultivar sementes da população e depois observar a presença, ou não, de pelos no pulvino.

Quadro 14. Espécie de cada uma das amostras e designação adoptada.

Amostra	Espécie	Designação
ECH 1	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH1
ECH 2	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH2
ECH 3	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH3
ECH 4	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH4
ECH 5	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>	ECHHI1
ECH 6	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>	ECHHI2
ECH 7	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH5
ECH 8	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH6
ECH 9	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH7
ECH 1B	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH8
ECH 2B	<i>E. phyllopogon</i>	ECHPH9
ECH 3Ba*	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>crus-galli</i> ou <i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>	ECH3Ba
ECH 3Bb	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>	ECHHI3
ECH 4B	<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i>	ECHHI4

*- A população ECH3Ba, como não foi possível aferir a espécie pela análise biométrica, permanecerá com a mesma designação

As sementes de algumas destas populações também estão presentes no *Index Seminum* do Herbário João de Carvalho e Vasconcelos no Instituto Superior de Agronomia e após observação à lupa das cariopses com a Eng^a Teresa Vasconcelos, das amostras ECH4, ECH5, ECH6 e ECH9, identificaram-se como *E. phyllopogon* a amostra ECH4 e *E. crus-galli* subsp. *hispidula* as amostras ECH5, ECH6 e ECH9. Apenas estas quatro amostras estavam disponíveis no momento da identificação. Todas estão em concordância com a análise feita através do software Smartgrain, excetuando a ECH9. Isto pode-se dever a estarem as duas espécies presentes no canteiro onde as sementes foram recolhidas e, por aleatoriedade, as sementes que estavam no INIAV terem comprimento médio ligeiramente maior que o das sementes que ficaram no Herbário João de Carvalho e Vasconcelos.

3.2.2. Teste de Quebra de Dormência

Com o objetivo de obter elevada percentagem de germinação realizou-se um ensaio em que se comparam três tratamentos diferentes para quebra de dormência. Os valores de germinação acumulada das sementes de *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECH5/ECHHI1) apresenta-se no Quadro 15. Foram feitas sete observações em cada modalidade durante os 13 dias de duração do estudo.

Quadro 15. Percentagem de germinação acumulada em cada modalidade durante os 13 dias após o tratamento (DAT).

Pré-tratamento	3DAT	4DAT	5DAT	6DAT	7DAT	8DAT	9DAT	10DAT	11DAT	12DAT	13DAT	
											Valor	(SE)
H ₂ SO ₄	0%	0%	0%	53%	65%	65%	74%	79%	79%	79%	86%	(5,374)
PEG	0%	0%	42%	58%	58%	60%	64%	64%	64%	64%	64%	(0)
GA ₃	0%	0%	0%	46%	50%	58%	60%	68%	68%	68%	68%	(6,363)

Analizando os dados presentes no quadro 15, pode-se concluir que as primeiras germinações se deram entre os 5 e os 6 dias após o tratamento, sendo que o pré-tratamento com menor período de latência foi o com PEG com cinco dias, enquanto que os tratamentos com H₂SO₄ e GA₃ incutiram um igual período de seis dias de latência.

Quanto ao tempo necessário para que haja 50% das sementes germinadas, o menor valor foi na repetição II do tratamento com PEG em que se verificou 52% de germinação 5 dias após o tratamento. Todas as restantes repetições atingiram os 50% de germinação 6 dias após o tratamento, excetuando a repetição II do tratamento com GA₃, que apenas se verificou 8 dias após o tratamento.

O tratamento com GA₃ foi o que teve menor velocidade de germinação com 2,188 sementes por dia, o tratamento com PEG teve uma velocidade de germinação de 2.286 sementes por dia, enquanto que o tratamento com H₂SO₄ foi aquele em que se verificou maior velocidade de germinação, com 4,563 sementes por dia.

No que diz respeito à capacidade germinativa final, obteve-se um menor valor no tratamento com polietileno glicol (64%) seguido pelo tratamento com GA₃ (64,45%). O tratamento ao qual está associada uma maior capacidade germinativa é o com H₂SO₄, com 86,15% de germinação.

Concluindo, o tratamento mais eficaz para a quebra de dormência foi o tratamento com ácido sulfúrico, com que se obteve uma taxa de germinação média de 86,15% bem como a maior velocidade de germinação, apesar do maior tempo de latência relativamente ao tratamento com PEG. Estes resultados sugerem que o mecanismo de dormência das sementes de *Echinochloa* spp. está diretamente ligado ao invólucro da semente, que pode estar a bloquear a absorção de água, as trocas gasosas ou simplesmente a limitar fisicamente o desenvolvimento do embrião.

3.2.3. Avaliação de Resistência

Com o objetivo de confirmar a resistência ao penoxsulame nas doze populações de *Echinochloa* spp. em estudo, realizaram-se ensaios em placa de Petri, com sementes onde se avaliou o efeito de três concentrações de penoxsulame nos seguintes parâmetros: germinação, comprimento da radícula e comprimento do coleóptilo.

Efeito do penoxsulame na germinação das sementes de *Echinochloa* spp.

No quadro 16, apresentam-se os valores médios de germinação para cada uma das populações.

Quadro 16. Germinação de sementes tratadas com cinco concentrações de penoxsulame (mg.L^{-1}) para cada uma das 12 populações de *Echinochloa* spp.

	Conc.	Germinação			Conc.	Germinação			
	mg.L ⁻¹	(SE)	g.h.		mg.L ⁻¹	(SE)	g.h.		
ECHPH1	0	16,5	(1,857)	a	ECHPH2*	0	25,5	(2,757)	a
	1	15	(1,857)	a		1	23,5	(2,757)	a
	10	15	(1,857)	a		10	18,5	(2,757)	a
	100	4	(1,857)	b		100	15	(2,757)	ab
	1000	0	(1,857)	b		1000	0,5	(2,757)	b
	p-value	0,004				p-value	0,008		
	F	16,536				F	12,901		
ECHPH3	0	8	(1,183)	a	ECHPH4	0	8,5	(2,766)	a
	1	7	(1,183)	a		1	9	(2,766)	a
	10	6	(1,183)	ab		10	7	(2,766)	a
	100	4	(1,183)	ab		100	0	(2,766)	a
	1000	0	(1,183)	b		1000	0	(2,766)	a
	p-value	0,027				p-value	0,154		
	F	7,143				F	2,686		
ECHPH5	0	9,5	(2,766)	a	ECHPH6	0	15,5	(1,884)	a
	1	14	(2,766)	a		1	11,5	(1,884)	a
	10	14	(2,766)	a		10	13,5	(1,884)	a
	100	10	(2,766)	a		100	7	(1,884)	ab
	1000	0	(2,766)	a		1000	0	(1,884)	b
	p-value	0,071				p-value	0,011		
	F	4,281				F	10,739		
ECHPH7	0	19	(1,732)	a	ECHPH8	0	10	(2,098)	a
	1	19	(1,732)	a		1	9	(2,098)	a
	10	16	(1,732)	a		10	8	(2,098)	a
	100	16	(1,732)	a		100	5	(2,098)	a
	1000	0	(1,732)	b		1000	0	(2,098)	a
	p-value	0,003				p-value	0,092		
	F	21,167				F	3,705		
ECHPH9	0	9	(1,378)	a	ECHHI1*	0	48,5	(1,3601)	a
	1	10	(1,378)	a		1	40,5	(1,3601)	bc
	10	9,5	(1,378)	a		10	39,5	(1,3601)	c
	100	4	(1,378)	ab		100	47,5	(1,3601)	ab
	1000	0,5	(1,378)	b		1000	0,5	(1,3601)	d
	p-value	0,016				p-value	<0,001		
	F	9,171				F	213,351		
ECHHI2	0	19,5	(1,483)	a	ECHHI4	0	22	(2,168)	a
	1	20,5	(1,483)	a		1	20,5	(2,168)	a
	10	22,5	(1,483)	a		10	19	(2,168)	a
	100	17,5	(1,483)	a		100	15,5	(2,168)	a
	1000	0	(1,483)	b		1000	0	(2,168)	b
	p-value	<0,001				p-value	0,004		
	F	37,841				F	17,005		

Nota: g.h. - grupos homogêneos.

*- As amostras com 50 sementes por placa de Petri, as restantes tiveram apenas 25 sementes por placa.

Os valores apresentados correspondem à média das duas repetições.

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tukey.

Nas populações da espécie *E. phyllopogon*, a que teve testemunhas com maior germinação foi a ECHPH7, com uma média de 76% das sementes germinadas nas duas

repetições. As que tiveram testemunhas com menor germinação foram as ECHPH3 e ECHPH4, com uma média de 34% das sementes germinadas nas duas repetições.

Nas populações da espécie *E. crus-galli* subsp. *hispidula*, as testemunhas que obtiveram maior germinação foram as da população ECHHI1, com uma média de 97% das sementes germinadas nas duas repetições. Por outro lado, a com menor germinação nas suas testemunhas foi a ECHHI2, com 78% das sementes germinadas.

No quadro 17, apresenta-se os extremos das reações observadas a cada concentração de penoxsulame.

Quadro 17. Extremos da germinação em cada concentração de herbicida.

Concentração penoxsulame	Extremos	População (repetição) /Valor
0 mg/L	Maior %Germinação	ECHHI1 (I): 98%
	Menor %Germinação	ECHPH4 (II): 20%
1 mg/L	Maior %Germinação	ECHHI4 (II): 96%
	Menor %Germinação	ECHPH3 (I): 12%
10 mg/L	Maior %Germinação	ECHHI2 (I): 96%
	Menor %Germinação	ECHPH4 (I): 8%
100 mg/L	Maior %Germinação	ECHHI1 (II): 98%
	Menor %Germinação	ECHPH1 (II); ECHPH4 (I e II): 0%
1000 mg/L	Maior %Germinação	ECHPH2 (II); ECHPH9 (I); ECHHI1 (I): 4%
	Menor %Germinação	Restantes populações.

Efeito do penoxsulame no comprimento da radícula de sementes de *Echinochloa* spp.

No quadro 18 apresentam-se os valores médios do comprimento da radícula para cada repetição e concentração de penoxsulame.

Nas populações da espécie *E. phyllopogon*, a que teve testemunhas com maior comprimento da radícula foi a amostra ECHPH1, com uma média de 47,16 mm nas duas repetições. A população com testemunhas com menor comprimento da radícula foi a ECHPH3, com uma média de 5,517 mm.

Nas populações da espécie *E. crus-galli* subsp. *hispidula*, a que teve testemunhas com maior comprimento da radícula foram as ECHHI1, com uma média de 29,12 mm nas duas repetições. Por outro lado, a população com menor comprimento da radícula nas suas testemunhas foi a ECHHI2, que teve uma média de 6,875 mm.

Quadro 18. Comprimento da radícula (CR) para sementes tratadas com várias concentrações de penoxsulame (mg.L⁻¹) para cada uma das amostras de *Echinochloa* spp.

	Conc.	CR				Conc.	CR		
	mg.L ⁻¹	mm	(SE)	g.h		mg.L ⁻¹	mm	(SE)	g.h.
ECHPH1	0	47,133	(2,135)	a	ECHPH2	0	21,593	(1,408)	a
	1	10,697	(2,036)	b		1	5,919	(1,701)	b
	10	4,3	(2,135)	b		10	5,152	(1,526)	b
	100	1	(2,036)	b		100	0	(1,889)	b
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
F	85,525			F	37,171				
ECHPH3	0	5,188	(0,883)	b	ECHPH4	0	8,177	(0,957)	a
	1	8,625	(1,249)	ab		1	5,389	(0,93)	ab
	10	8,643	(0,944)	a		10	4	(1,055)	b
	100	1,333	(1,02)	c		100			
	1000					1000			
	p	<0,001				p	0,015		
F	11,25			F	4,594				
ECHPH5	0	9,79	(1,353)	b	ECHPH6	0	24,065	(1,724)	a
	1	16,214	(1,115)	a		1	7,957	(2,002)	b
	10	8,429	(1,115)	b		10	6,296	(1,848)	b
	100	0,55	(1,319)	c		100	0,857	(2,566)	b
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
F	27,745			F	27,107				
ECHPH7	0	11,553	(0,82)	a	ECHPH8	0	22,65	(2,24)	a
	1	9,018	(0,676)	a		1	12,833	(2,361)	b
	10	5,156	(0,894)	b		10	7,125	(2,505)	bc
	100	0,656	(0,894)	c		100	1,2	(3,168)	c
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
F	31,414			F	12,62				
ECHPH9	0	8,722	(1,363)	ab	ECHHI1	0	29,124	(0,806)	a
	1	12,3	(1,293)	a		1	8,914	(0,894)	c
	10	6,579	(1,327)	bc		10	14,823	(0,882)	b
	100	0,375	(2,045)	c		100	1,011	(0,815)	d
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
F	8,778			F	213,127				
ECHHI2	0	6,436	(0,707)	a	ECHHI4	0	8,136	(0,731)	a
	1	6,61	(0,689)	a		1	8,195	(0,757)	a
	10	5,956	(0,658)	a		10	6,421	(0,787)	a
	100	0,286	(0,746)	b		100	0,129	(0,871)	b
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
F	17,222			F	20,865				

Notas: g.h. – grupos homogêneos

Os valores apresentados correspondem à média das duas repetições.

Valores seguidos da mesma letra, por coluna, não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tukey.

No Quadro 19 apresentam-se os extremos das reações observadas a cada concentração de penoxsulame.

Quadro 19. Extremos do comprimento da radícula (CR) em cada concentração de herbicida.

Concentração penoxsulame	Extremos	População (repetição) /Valor
0 mg/L	Maior CR	ECHPH1 (I): 47,5 mm
	Menor CR	ECHPH3 (II): 3,71 mm
1 mg/L	Maior CR	ECHPH5 (II): 17 mm
	Menor CR	ECHPH2 (I): 1,304 mm
10 mg/L	Maior CR	ECHHI1 (I): 15,286 mm
	Menor CR	ECHPH2 (I): 2,79 mm
100 mg/L	Maior CR	ECHPH8 (I): 2 mm
	Menor CR	Várias: 0 mm
1000 mg/L	Maior CR	ECHPH2 (II): 2 mm
	Menor CR	Todas exceto ECHPH (II): 0 mm

Efeito do penoxsulame no comprimento do coleóptilo de sementes de *Echinochloa* spp.

No Quadro 20 apresentam-se as medições médias do comprimento do coleóptilo para cada repetição e concentração de penoxsulame.

Nas populações da espécie *E. phyllopogon*, a que teve testemunhas com maior comprimento do coleóptilo foi a ECHPH1, com uma média de 50,107 mm. A população com testemunhas com menor comprimento do coleóptilo foi a ECHPH9, com uma média de 16,788 mm.

Nas populações da espécie *E. crus-galli* subsp. *hispidula*, a que teve testemunhas com maior comprimento do coleóptilo foi a ECHHI1, com uma média de 44,662 mm. Por outro lado, a população com menor comprimento do coleóptilo nas suas testemunhas foi a ECHHI2, com uma média de 17,899 mm.

No Quadro 21 apresentam-se os extremos das reações observadas a cada concentração de penoxsulame.

Quadro 20. Comprimento do coleóptilo (CC) para sementes tratadas com várias concentrações de penoxsulame (mg.L^{-1}) para cada uma das 12 amostras de *Echinochloa* spp.

Echinocloa spp.									
	Conc.	CC				Conc.	CC		
	mg.L ⁻¹	mm	(SE)	g.h.		mg.L ⁻¹	mm	(SE)	g.h.
ECHPH1	0	50,033	(1,602)	a	ECHPH2	0	30,278	(3,523)	a
	1	11,424	(1,528)	b		1	11,348	(3,817)	b
	10	7,367	(1,602)	bc		10	9,541	(4,526)	b
	100	2	(3,103)	c		100	4,767	(4,727)	b
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
	F	159,147				F	8,62		
ECHPH3	0	30,625	(1,609)	a	ECHPH4	0	18,588	(1,549)	a
	1	11,25	(2,276)	b		1	6,333	(1,505)	b
	10	9	(1,72)	b		10	5,5	(1,717)	b
	100	6,667	(1,858)	b		100			
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
	F	42,882				F	21,748		
ECHPH5	0	24,684	(1,948)	a	ECHPH6	0	34,484	(1,319)	a
	1	20,857	(1,605)	a		1	10,87	(1,532)	b
	10	13,607	(1,605)	b		10	8,222	(1,412)	b
	100	3,25	(1,899)	c		100	5,643	(1,963)	b
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
	F	25,418				F	87,885		
ECHPH7	0	21,974	(0,768)	a	ECHPH8	0	26,95	(1,896)	a
	1	9,447	(0,768)	b		1	12,8333	1,998)	b
	10	6,094	(0,837)	c		10	10,625	(2,119)	b
	100	3,563	(0,837)	d		100	6,1	(2,681)	b
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
	F	106,957				F	18,611		
ECHPH9	0	17,167	(2,048)	a	ECHHI1	0	44,66	(0,959)	a
	1	12,8	(1,943)	ab		1	15,272	(1,05)	b
	10	7,263	(1,994)	bc		10	15,443	(1,063)	b
	100	2,75	(3,074)	c		100	7,726	(0,969)	c
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
	F	6,875				F	284,194		
ECHHI2	0	17,077	(1,123)	a	ECHHI4	0	36,114	(1,599)	a
	1	7,781	(1,096)	b		1	10,049	(1,651)	b
	10	7,09	(1,046)	b		10	8,421	(1,720)	b
	100	3,686	(1,186)	b		100	4,29	(1,905)	b
	1000					1000			
	p	<0,001				p	<0,001		
	F	25,453				F	76,136		

Notas: CC – comprimento do coleóptilo; g.h. – grupos homogêneos.

Os valores apresentados correspondem à média das duas repetições.

Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tukey.

Quadro 21. Extremos do comprimento do coleóptilo (CC) em cada concentração de penoxsulame.

Concentração penoxsulame	Extremos	População (repetição) /Valor
0 mg/L	Maior CC	ECHPH1 (I): 51,214 mm
	Menor CC	ECHHI2 (II): 8,091 mm
1 mg/L	Maior CC	ECHHI1 (II): 18,8 mm
	Menor CC	ECHPH4 (II): 5,375 mm
10 mg/L	Maior CC	ECHHI1 (II): 15,757 mm
	Menor CC	ECHPH9 (I): 5,143 mm
100 mg/L	Maior CC	ECHHI1 (II): 8,347 mm
	Menor CC	Várias: 0 mm
1000 mg/L	Maior CC	ECHHI1 (I): 2 mm
	Menor CC	Todas exceto ECHPH9 (I) e ECHHI1 (I): 0 mm

Em alguns ensaios notou-se uma estimulação quando as sementes foram expostas a doses subletais de penoxsulame, a este fenómeno dá-se o nome de hormesis (Belz & Duke, 2014).

No Quadro 22 sintetizam-se os valores de germinação e os valores médios dos comprimentos da radícula e do coleóptilo, no formato de percentagem relativamente à testemunha.

Pela análise do quadro 22, observa-se que houve algum estímulo na germinação e no comprimento da radícula. Também se pode verificar que o fenómeno de hormesis inferiu mais na germinação do que no comprimento da radícula.

Quadro 22. Germinação e comprimento da radícula e do coleóptilo, expressos em percentagem relativamente à testemunha, das 12 populações de *Echinochloa* spp.

Estratificação da testemunha, das 12 populações de Echinomys spp.											
	Test. (%)		(%testemunha)								
			1 mg/L		10 mg/L		100 mg/L		1000 mg/L		
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
Germinação	ECHPH1	56	64	114,29	106,25	107,14	93,75	57,143	0	0	0
	ECHPH2	52	42	88,462	133,33	73,077	85,714	38,642	95,238	0	4,762
	ECHPH3	36	28	33,333	71,429	55,556	128,57	77,778	71,429	0	0
	ECHPH4	48	20	83,333	160	16,667	240	0	0	0	0
	ECHPH5	44	32	145,45	150	90,909	225	54,545	175	0	0
	ECHPH6	60	64	93,333	56,25	100	75	66,667	25	0	0
	ECHPH7	80	72	100	100	90	77,778	65	105,56	0	0
	ECHPH8	48	32	41,667	162,5	75	87,5	50	50	0	0
	ECHPH9	32	40	112,5	110	87,5	120	65,5	30	12,5	0
	ECHHI1	98	96	83,673	83,333	85,714	77,083	93,878	102,08	2,041	0
	ECHHI2	68	88	123,53	90,909	141,18	95,455	111,76	72,727	0	0
	ECHHI4	80	96	85	100	100	75	90	54,167	0	0
Comprimento da Radícula	Test. (mm)		1 mg/L		10 mg/L		100 mg/L		1000 mg/L		
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
	ECHPH1	47,5	46,813	19,868	25,383	7,018	11,251	2,105	0	0	0
	ECHPH2	14,654	28,036	8,901	32,102	19,036	32,895	0	0	0	7,134
	ECHPH3	6,6	3,714	161,62	199,25	112,12	251,29	17,318	43,08	0	0
	ECHPH4	6,75	11,6	100,74	31,25	96,296	30,891	0	0	0	0
	ECHPH5	6,546	14,25	238,72	119,3	103,89	65,497	25,463	0,501	0	0
	ECHPH6	21,688	26,6	31,764	32,492	26,13	25,564	6,611	3,008	0	0
	ECHPH7	9,5	13,833	112,11	58,635	41,516	48,536	6,474	4,945	0	0
	ECHPH8	26,583	16,75	24,075	91,389	25,914	44,35	7,524	0	0	0
	ECHPH9	6,25	10,7	183,11	121,5	77,714	70,872	0	9,346	0	0
	ECHHI1	29,469	28,771	8,525	5,787	51,87	49,694	3,541	3,405	0	0
ECHHI2	10,294	3,455	48,106	241,68	58,286	170,91	2,555	9,0593	0	0	
ECHHI4	6,65	9,375	89,341	104,44	83,459	78,815	2,506	0,821	0	0	
Comprimento do Coleóptilo	Test. (mm)		1 mg/L		10 mg/L		100 mg/L		1000 mg/L		
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	
	ECHPH1	51,214	49	19,648	25,93	14,709	14,694	3,905	0	0	0
	ECHPH2	35,308	25,607	24,998	54,163	23,403	42,523	11,895	19,721	0	0
	ECHPH3	30,444	30,857	38,323	35,648	26,278	30,969	23,643	19,445	0	0
	ECHPH4	16,917	22,6	41,97	23,783	41,379	23,23	0	0	0	0
	ECHPH5	24,182	25,375	75,987	95,238	55,414	54,078	4,825	16,327	0	0
	ECHPH6	34,563	34,867	30,863	31,549	27,003	2,031	12,296	16,164	0	0
	ECHPH7	21,2	22,833	51,651	34,65	24,896	31,284	16,693	15,675	0	0
	ECHPH8	29,583	23	29,07	62,876	34,178	49,068	27,606	13,044	0	0
	ECHPH9	13,375	20,2	79,751	72,007	38,451	42,079	22,43	11,551	7,477	0
	ECHHI1	44,469	44,854	26,826	41,914	34,106	35,189	15,888	18,609	4,498	0
ECHHI2	27,706	8,091	26,467	101,97	24,966	90,051	12,156	50,216	0	0	
ECHHI4	34,45	37,5	27,149	28,111	23,222	23,704	11,611	12,513	0	0	

Nota: os valores a vermelho indicam valores que são menores que os da testemunha enquanto que os valores a verde indicam valores que são maiores que os da testemunha e, por conseguinte, constituem casos de hormesis.

Estimativa dos valores de EC₅₀ obtidos pelo ajustamento do modelo não linear log-logístico e dos Fatores de Resistência

No Quadro 23, apresentam-se os valores de EC₅₀ para cada um dos parâmetros observados, bem como os respetivos desvios padrão e p-values. As curvas da regressão não linear estão apresentados no Anexo 6. No Quadro 24 apresentam-se os fatores de resistência (EC₅₀ Amostra R / ED₅₀ Amostra S) para cada amostra relativamente à amostra considerada como suscetível de referência.

Quadro 23. Valores de EC₅₀ relativamente ao penoxsulame, para cada amostra de *Echinochloa phyllopogon* e *E. crus-galli* subsp. *hispidula* em estudo.

	Germinação			Comprimento da radícula			Comprimento do coleóptilo		
	EC ₅₀	(SE)	p-value	EC ₅₀	(SE)	p-value	EC ₅₀	(SE)	p-value
ECHPH1	54,905	(27,178)	0,083	0,103	(0,041)	0,039	0,039	(0,027)	0,198
ECHPH2	142,08	(77,634)	0,11	0,133	(0,412)	0,756	0,307	(0,415)	0,484
ECHPH3	548,13	(8765,7)	0,952	75,92	(241,996)	0,756	0,221	(0,196)	0,297
ECHPH4	15,305	(57,612)	0,798	4,181	(5,59)	0,479	0,221	(0,305)	0,492
ECHPH5	157,88	(337,24)	0,654	10,875	(20,493)	0,612	11,843	(3,197)	0,008
ECHPH6	103,09	(27,334)	0,007	0,198	(0,191)	0,336	0,093	(0,074)	0,23
ECHPH7	185,78	(336,58)	0,598	7,32	(3,854)	0,099	0,525	(0,314)	0,139
ECHPH8	99,674	(92,638)	0,318	1,29	(1,316)	0,36	0,956	(1,171)	0,441
ECHPH9	82,965	(31,259)	0,033	10,995	(10,074)	0,311	5,701	(3,462)	0,144
	Germinação			Comprimento da radícula			Comprimento do coleóptilo		
	EC ₅₀	(SE)	p-value	EC ₅₀	(SE)	p-value	EC ₅₀	(SE)	p-value
ECHHI1	478,83	(652,92)	0,487	0,353	(0,842)	0,687	0,188	(0,226)	0,432
ECHHI2	154,42	(292,73)	0,614	24,559	(27,786)	0,406	0,727	(2,228)	0,754
ECHHI4	153,63	(151,51)	0,344	18,341	(16,125)	0,293	0,05	(0,048)	0,333

No Quadro 24 apresentam-se os fatores de resistência para cada uma das amostras relativamente à amostra considerada suscetível de referência. Escolheu-se a amostra ECHPH1 como a suscetível de referência devido a ser a amostra com um menor EC₅₀ nos parâmetros do comprimento da radícula e comprimento do coleóptilo. Embora não seja a amostra com o menor EC₅₀ no parâmetro da germinação, apresentou o segundo valor mais baixo.

Note-se que os valores de erro padrão e p-value foram muito mais elevados do que o esperado. Os valores de desvio padrão (SE), muitas vezes, foram superiores ao próprio valor do EC₅₀. Os valores de p-value, excetuando em três ocasiões, foram sempre superiores a 0,05, o que significa o modelo não se ajusta aos dados a um nível de significância de 95%. Para melhorar estes valores poder-se-ia aumentar o número de repetições ou ajustar a gama de concentrações utilizadas, uma vez que os valores de EC₅₀, para a germinação, fora os valores para a germinação da amostra ECHPH4 (548,13 mg/L) e da ECHHI1 (478,83 mg/L), nunca ultrapassaram os 200 mg/L. Para os restantes dois parâmetros, as gamas de concentrações

poderiam ser ainda mais baixas, uma vez que os valores de EC50 variam, para o comprimento da radícula, entre 0,10 e 75,92 mg/L e, para o comprimento do coleóptilo, entre 0,04 e 11,84 mg/L.

Quadro 24. Fatores de resistência (FR) de cada amostra relativamente à amostra considerada suscetível de referência para os três parâmetros medidos, para os dois táxones de *Echinochloa* spp. em estudo.

		Germinação		CR		CC	
		EC ₅₀	FR	EC ₅₀	FR	EC ₅₀	FR
		EC ₅₀	FR	EC ₅₀	FR	EC ₅₀	FR
<i>Echinochloa phyllopogon</i> (Stapf) Ex Kossenko	ECHPH1	54,91	1	0,1	1	0,04	1
	ECHPH2	142,08	2,59	0,13	1,3	0,31	7,94
	ECHPH3	548,13	9,98	75,92	740,18	0,22	5,72
	ECHPH4	15,31	0,28	4,18	40,76	0,22	5,71
	ECHPH5	157,88	2,88	10,88	106,03	11,84	306,19
	ECHPH6	103,09	1,88	0,2	1,93	0,09	2,4
	ECHPH7	185,78	3,38	7,32	71,36	0,53	13,57
	ECHPH8	99,67	1,82	1,29	12,57	1	24,7
	ECHPH9	82,97	1,51	11	107,2	5,7	147,39
<i>Echinochloa crus-galli</i> subsp. <i>crus-galli</i> (Retz.) Honda		Germinação		CR		CC	
		EC ₅₀	FR	EC ₅₀	FR	EC ₅₀	FR
	ECHHI1	478,83	8,72	0,35	3,45	0,19	4,86
	ECHHI2	154,42	2,81	24,56	239,44	0,73	18,8
	ECHHI4	153,63	2,8	18,34	178,82	0,05	1,28

Após a análise dos valores do fator de resistência, selecionaram-se seis populações, uma suscetível de referência e cinco consideradas resistentes, como apresentado no Quadro 25, para serem realizados estudos de dose-resposta com planta inteiro em estufa.

Quadro 25. Amostras selecionadas para os estudos de dose-resposta com planta inteira em estufa.

Táxone	Amostra	S/R
<i>Echinochloa phyllopogon</i> (Stapf) Ex Kossenko	ECHPH1	S
	ECHPH5	R
	ECHPH6	R
<i>Echinochloa crus-galli</i> subsp. <i>crus-galli</i> (Retz.) Honda	ECHHI1	R
	ECHHI2	R
	ECHHI4	R

No táxone *E. phyllopogon*, além da população ECHPH1 como suscetível de referência, escolheram-se ainda as ECHPH5 e ECHPH6, a primeira devido a apresentar fatores de resistência muitíssimo elevados para os parâmetros dos comprimentos da radícula e do coleóptilo (106,025 e 306,187, respetivamente) e por apresentar um p-value menor que 0,05 para o parâmetro do comprimento do coleóptilo. A ECHPH6 foi escolhida por apresentar valores de fator de resistência a rondar o 2 para todos os parâmetros e por apresentar o valor de p-value menor que 0,05 para o parâmetro da germinação. Pesou também na decisão a quantidade de sementes disponíveis, a população ECHPH3, pelos seus valores de EC50 e de FR também poderia ser escolhida, mas como a quantidade de material vegetal era muito

menor relativamente às escolhidas, optou-se por não a selecionar para evitar o risco de não haver material vegetal suficiente para todos os estudos.

No táxone *E. crus-galli* subsp. *hispidula* foram escolhidas as três populações, ECHHI1, ECHHI2 e ECHHI4 para os estudos com planta inteira.

3.2.4. Ensaio de Dose-resposta com planta inteira em estufa

3.2.4.1. Resistência ao penoxsulame

Realizaram-se dois ensaios de resposta à dose, cada um com três populações de *Echinochloa* para avaliação da resistência ao penoxsulame através do efeito no peso verde e na sobrevivência das plantas.

Efeito da dose recomendada (N)

No quadro 26 apresentam-se os valores da percentagem de sobrevivência e os valores médios do peso verde para as doses de 0 g/ha (testemunha) e 40 g/ha (N).

Quadro 26. Efeito do penoxsulame na mortalidade e no peso verde de três plantas, para as doses de 0 g.ha⁻¹ (testemunha) e 40 g.ha⁻¹ (N), em 6 populações de *E. phyllopogon* (ECHPH) e *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECHHI).

Sobrevivência						
Dose	ECHPH1 (4)		ECHPH5 (3)		ECHPH6 (3)	
g.ha ⁻¹	%	(SE)	%	(SE)	%	(SE)
0	85	(8,028)	93,333	(4,179)	80	(12,444)
40	81,25	(8,028)	100	(4,179)	86,667	(12,444)
Dose	ECHHI1 (4)		ECHHI2 (5)		ECHHI4 (3)	
g.ha ⁻¹	%	(SE)	%	(SE)	%	(SE)
0	85	(11,432)	96	(8,797)	100	(13,801)
40	91,667	(11,432)	100	(8,797)	100	(13,801)
Peso Verde						
Dose	ECHPH1 (3)		ECHPH5 (3)		ECHPH6 (3)	
g.ha ⁻¹	g	(SE)	g	(SE)	g	(SE)
0	16,39	(2,0457)	11,57	(8,1284)	14,0525	(2,1377)
40	7,0167	(2,3621)	20,4	(6,6368)	10,88	(2,6484)
Dose	ECHHI1 (3)		ECHHI2 (3)		ECHHI4 (3)	
g.ha ⁻¹	g	(SE)	g	(SE)	g	(SE)
0	19,5125	(3,291)	23,134	(3,2758)	20,95	(4,5902)
40	12,2133	(3,8002)	21,894	(3,2758)	32,6467	(4,5902)

Valores entre parêntesis a seguir à amostra indicam o número de repetições a partir das quais foi calculado o valor médio.

No que à mortalidade diz respeito, na testemunha, a população com maior percentagem de mortalidade foi a ECHPH6 (*E. phyllopogon*) com 20% de mortalidade enquanto a que teve menor percentagem foi a ECHHI4 (*E. crus-galli* subsp. *hispidula*) com 0%

de mortalidade. Relativamente à dose de 40 g/ha a maior percentagem de mortalidade (18,75%) foi observada na população ECHPH1 (*E. phyllopogon*) com 18,75%, enquanto que as amostras ECHPH5 (*E. phyllopogon*), ECHHI2 e ECHHI4 (*E. crus-galli* subsp. hispidula) tiveram percentagem zero de mortalidade. De notar que apenas numa população a mortalidade aumentou da testemunha para a dose N, na ECHPH1 (*E. phyllopogon*). Nas restantes amostras, a mortalidade permaneceu zero na amostra ECHHI4 e nas restantes diminuiu sempre.

Quanto ao peso verde, à dose de 0 g/ha de penoxsulame, a população com maior valor foi a ECHHI2 com 23,134 g, enquanto que a que teve menor foi a ECHPH5, com 11,57 g. À dose de 40 g/ha, a população com maior valor foi a ECHHI4 com 32,647 g, enquanto que a que teve menor valor foi a ECHPH6, com 10,88 g. Nas populações ECHPH5 e ECHHI4 houve um aumento do peso verde da testemunha para a dose N. Enquanto que este baixou nas restantes.

Resposta à dose da planta inteira

No quadro 27 apresentam-se os valores médios de percentagem de sobrevivência das plantas, em vasos, pulverizadas com várias doses de penoxsulame. No quadro 28 apresentam-se os valores médios de peso verde associados a cada dose aplicada de penoxsulame.

Repare-se, no quadro 27, que os valores de p-value menores que 0,05 estão associados às amostras que tiveram maior número de repetições, sendo que no caso das amostras que só tinham três repetições (ECHPH5, ECHPH6 e ECHHI4) tiveram todas um valor de p-value superior a 0,05. As restantes, com quatro ou cinco repetições, tiveram todas valores inferiores a 0,05. Para alguns valores de p-value também pode contribuir a mortalidade de plantas por motivos que não a aplicação de herbicida, e que pode aumentar a variabilidade dos dados. Fatores como a distribuição das sementes no vaso, ou de temperaturas mais elevadas, etc., são fatores que podem contribuir para a mortalidade das plantas.

No quadro 28 vê-se que os p-values são todos inferiores a 0,05 exceto para a amostra ECHPH5, o que pode-se dever à heterogeneidade de estado fenológico da amostra, ou seja, embora aproximadamente 63% dos vasos continham plantas no estado fenológico BBCH 14 (36,364%) e entre o estado 14 e 15 (27,273%), pouco mais de 27% dos vasos contém plantas nos estados fenológicos entre 14 e 16, 14 e 17 e 15 e 18 e pouco mais de 9% dos vasos contém plantas com estados fenológicos entre 12 e 14 e entre 13 e 14 (Anexo 7).

Quadro 27. Efeito do penoxsulame na sobrevivência (%) de 6 populações de *E. phyllopogon* (ECHPH) e *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECHHI)

Dose (g.ha ⁻¹)	ECHPH1 (4)			ECHPH5 (3)			ECHPH6 (3)		
	%	(SE)	g.h.	%	(SE)	g.h.	%	(SE)	g.h.
0	85	(8,028)	ab	93,333	(4,179)	a	80	(12,444)	a
1,25	100	(8,028)	a						
2,5	81,667	(8,028)	ab						
5	57,917	(8,028)	b						
10	75	(8,028)	ab	100	(4,179)	a	100	(12,444)	a
20	100	(8,028)	a	100	(4,179)	a	93,333	(12,444)	a
40	81,25	(8,028)	ab	100	(4,179)	a	86,667	(12,444)	a
80	100	(8,028)	a	100	(5,118)	a	93,333	(12,444)	a
160				100	(4,179)	a	100	(12,444)	a
320				93,333	(4,179)	a	91,667	(12,444)	a
640				90	(5,118)	a	58,333	(12,444)	a
P	0,012			0,582			0,356		
F	3,399			0,826			1,203		
Dose (g.ha ⁻¹)	ECHHI1 (4)			ECHHI2 (5)			ECHHI4 (3)		
	%	(SE)	g.h.	%	(SE)	g.h.	%	(SE)	g.h.
0	85	(11,432)	ab	96	(8,797)	a	100	(13,801)	a
1,25									
2,5									
5									
10	90	(11,432)	ab	95	(8,797)	a	100	(13,801)	a
20	100	(11,432)	a	100	(8,797)	a	100	(13,801)	a
40	91,667	(11,432)	ab	100	(8,797)	a	100	(13,801)	a
80	62,5	(11,432)	ab	95	(8,797)	a	100	(13,801)	a
160	100	(11,432)	a	90	(8,797)	a	60	(13,801)	a
320	81,25	(11,432)	ab	59,333	(8,797)	b	80	(13,801)	a
640	39,583	(11,432)	b	46	(8,797)	b			
p	0,014			<0,001			0,319		
F	3,268			5,493			1,3		

O valor, entre parênteses, em frente ao nome da população significa o número de repetições a partir das quais os valores médios de mortalidade (%) foram calculados. Valores seguidos da mesma letra, por coluna, não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tukey.

Quadro 28. Efeito do penoxsulame no crescimento (peso verde, g) de 6 populações de *E. phyllopogon* (ECHPH) e *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECHHI).

Dose (g.ha ⁻¹)	ECHPH1 (3)			ECHPH5 (3)			ECHPH6 (3)		
	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.
0	16,39	(2,046)	a	11,57	(8,128)	a	14,053	(2,138)	a
1,25	4,983	(2,362)	b						
2,5	4,97	(2,362)	b						
5	6,537	(2,362)	ab						
10	12,04	(2,362)	ab	32,887	(6,637)	a	14,73	(2,648)	a
20	13,257	(2,362)	ab	18,287	(6,637)	a	9,44	(2,648)	ab
40	7,017	(2,362)	ab	20,4	(6,637)	a	10,88	(2,648)	ab
80	7,397	(2,362)	ab	13,72	(6,637)	a	7,957	(2,648)	ab
160				9,377	(6,637)	a	3,86	(2,648)	ab
320				7,66	(6,637)	a	4,297	(2,648)	ab
640				3,29	(6,637)	a	0,72	(3,023)	b
P	0,013			0,169			0,012		
F	3,687			1,782			3,883		
Dose (g.ha ⁻¹)	ECHHI1 (3)			ECHHI2 (3)			ECHHI4 (3)		
	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.
0	19,513	(3,291)	a	23,134	(3,276)	a	20,95	(4,59)	a
1,25									
2,5									
5									
10	17,147	(3,8)	ab	23,5667	(4,229)	a	41,83	(4,59)	a
20	25,547	(3,8)	a	24,453	(4,229)	a	42,1033	(4,59)	a
40	12,213	(3,8)	ab	21,894	(3,276)	a	32,6467	(4,59)	ab
80	10,657	(3,8)	ab	16,59	(4,229)	ab	13,17	(4,59)	bc
160	1,067	(3,8)	b	5,903	(4,229)	ab	7,2933	(4,59)	c
320	0,343	(3,8)	b	0,335	(3,276)	b	3,0233	(4,59)	c
640	0,463	(3,8)	b	8,07	(4,229)	ab			
p	<0,001			0,003			<0,001		
F	6,632			4,708			12,334		

O valor, entre parênteses, em frente ao nome da população significa o número de repetições a partir das quais os valores médios de peso verde foram calculados. Valores seguidos da mesma letra, por coluna, não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tukey.

No Quadro 29 apresentam-se as variações para os valores de percentagem de sobrevivência e peso verde para cada dose de penoxsulame.

Pela análise do quadro 29 é notória a diferença de comportamento entre a amostra ECHPH1 (suscetível de referência) e as restantes, tanto na percentagem de mortalidade como no peso verde. A amostra ECHPH1 apresenta valores de percentagem de mortalidade até aos 60% até à dose de campo. De notar que os valores de redução de mortalidade são devidos a testemunhas que apresentaram alguma percentagem de mortalidade, valor este que não é devido ao penoxsulame. Isto indica que, excetuando nas doses mais elevadas, o penoxsulame não causa mortalidade nas populações de ambas as espécies em estudo, excetuando na ECHPH1.

Quadro 29. Variações dos valores de sobrevivência e peso verde relativamente às testemunhas. Na parte da sobrevivência apresenta-se a variação da percentagem de plantas que sobreviveram à aplicação de penoxsulame relativamente à testemunha enquanto que na parte do peso verde apresentam-se os valores de peso verde no formato de percentagem relativamente à testemunha.

Concentrações (N – dose de campo)										
	Repetição	Test. (%)	1,25 g.ha ⁻¹	2,5 g.ha ⁻¹	5 g.ha ⁻¹	10 g.ha ⁻¹	20 g.ha ⁻¹	40 g.ha ⁻¹	80 g.ha ⁻¹	
Sobrevivência (%)	ECHPH1	I	100	0	-25	-50	0	-25	0	
		II	100	0	-33,333	-60	0	0	-25	0
		III	80	0	-20	-13,333	+20	+20	-5	0
		IV	60	+40	+40	-10	-10	+40	+40	+40
	Repetição		Test. (%)	10 g.ha ⁻¹	20 g.ha ⁻¹	40 g.ha ⁻¹	80 g.ha ⁻¹	160 g.ha ⁻¹	320 g.ha ⁻¹	640 g.ha ⁻¹
	ECHPH5	I	80	+20	+20	+20	+20	+20	0	0
		II	100	0	0	0	0	0	0	0
		III	100	0	0	0	0	0	0	-
	ECHPH6	I	60	+40	+20	-20	+40	+40	+40	+15
		II	40	+20	+20	0	+20	+20	+20	-80
	ECHHI1	III	100	0	0	0	-20	0	-25	0
		I	100	0	0	0	-50	0	0	-25
		II	100	0	0	-33,333	0	0	0	-50
		III	100	-40	0	0	-25	0	-50	-66,667
	ECHHI2	IV	60	+60	+60	+60	-15	-60	+35	-40
		I	100	0	0	0	0	0	0	-100
		II	100	0	0	0	0	0	-50	-20
		III	80	-5	+20	+20	+20	+20	-80	-30
		IV	100	0	0	0	0	0	-33,333	-50
	ECHHI4	V	100	0	0	0	-25	-50	-20	-50
		I	100	0	0	0	0	-20	0	-
		II	100	0	0	0	0	-100	-60	-
		III	100	0	0	0	0	0	0	-
Repetição		Test. (g)	1,25 g.ha ⁻¹	2,5 g.ha ⁻¹	5 g.ha ⁻¹	10 g.ha ⁻¹	20 g.ha ⁻¹	40 g.ha ⁻¹	80 g.ha ⁻¹	
ECHPH1	I	22,260	9,119	20,620	18,688	29,919	31,447	57,008	36,433	
	II	12,800	40,234	23,281	56,250	91,875	130,625	42,422	27,344	
	III	16,280	47,727	45,086	50,676	108,722	98,587	17,998	64,988	
	Média	-	32,360	29,662	41,871	76,839	86,886	39,143	42,922	
Repetição		Test. (g)	10 g.ha ⁻¹	20 g.ha ⁻¹	40 g.ha ⁻¹	80 g.ha ⁻¹	160 g.ha ⁻¹	320 g.ha ⁻¹	640 g.ha ⁻¹	
ECHPH5	I	6,210	218,519	258,132	335,910	185,829	190,338	46,055	87,440	
	II	9,630	249,013	70,820	269,367	165,109	114,123	152,856	11,942	
	III	18,870	323,847	169,634	76,312	-	28,193	28,193	-	
	Média	-	263,793	166,196	227,196	175,469	110,885	75,701	-	
ECHPH6	I	18,830	33,245	40,414	35,582	43,176	24,695	24,960	4,036	
	II	12,080	131540	71,192	58,030	44,371	24,255	47,765	-	
	III	14,500	152,000	83,517	130,552	71,586	27,586	16,690	4,690	
	Média	-	105,595	65,041	74,721	53,044	25,512	29,805	4,363	
ECHHI1	I	20,580	81,293	157,775	21,769	28,912	7,677	1,118	1,361	
	II	29,010	87,315	73,354	27,715	71,493	2,827	1,861	3,068	
	III	17,080	54,918	134,016	141,218	30,913	4,684	1,522	1,288	
	Média	-	75,091	113,008	57,461	43,560	5,063	1,500	1,906	
ECHHI2	I	17,850	115,686	116,527	134,622	62,297	13,894	1,289	133,725	
	II	20,610	128,530	152,790	103,979	66,521	66,521	2,135	0,873	
	III	25,210	93,455	83,578	42,007	98,929	6,029	-	0,635	
	IV	30,380	-	-	66,919	-	-	-	-	
	V	21,620	-	-	153,053	-	-	-	-	
ECHHI4	Média	-	112,557	117,631	100,116	75,916	28,815	1,712	45,078	
	I	8,300	388,193	441,928	276,988	128,313	70,361	26,386	-	
	II	30,820	140,623	124,886	145,685	29,332	24,400	2,920	-	
	III	23,730	210,409	215,508	126,633	83,523	35,904	25,200	-	
Média	-	246,408	260,774	183,102	80,389	43,555	18,169	-		

Os valores a vermelho significam que houve decréscimo da percentagem de sobrevivência do peso verde relativamente à testemunha, enquanto que os valores a verde significam aumento da percentagem de sobrevivência ou do peso verde relativamente à testemunha.

Há também alguma diferença entre os dois táxones representados. As populações de *E. crus-galli* subsp. *hispidula* os aumentos de mortalidade associados ao aumentar da dose de penoxsulame surgem nos vasos em que se aplicaram doses superiores (2N→16N) à dose de campo de 40 g/ha. Enquanto que nas populações de *E. phyllopogon* consideradas como resistentes, este efeito se verifica para as doses de 320 g/ha (8N) e 640 g/ha (16N) na amostras ECHPH6.

Na população ECHPH1 a redução de peso verde começa logo na dose 1,25 g/ha (1/32N) de penoxsulame, excetuando em dois vasos, o que pode ser devido a alguma razão que não permitiu que o herbicida fosse absorvido pelas plantas de igual modo ao das plantas dos outros vasos.

As restantes populações do táxone *E. phyllopogon* apresentam um comportamento diferente da primeira mas diferente entre si. A população ECHPH6 apresenta vasos com peso verde superior à testemunha quando pulverizados com a dose de 10 g/ha (1/4N) mas, a doses superiores, o peso verde é sempre inferior à testemunha. A população ECHPH5 apresenta vasos com peso verde superior à testemunha se pulverizado com doses até 320 g/ha (8N).

Nas populações do táxone *E. crus-galli* subsp. *hispidula* o comportamento é mais homogêneo, com os vasos das populações ECHHI2 e ECHHI4 a terem pesos superiores às testemunhas até à dose de campo (40 g/ha – 1N). Na população ECHHI1 embora nos vasos tratados com as doses de 10 g/ha (1/4N) e 40 g/ha (1N) haja decréscimo do peso verde, na dose de 20 g/ha (1/2N), os vasos apresentam, em média, um peso verde 13% maior que as testemunhas.

Estimativa dos valores de ED₅₀ obtidos pelo ajustamento do modelo não linear log-logístico e dos Fatores de Resistência

No Quadro 30 apresentam-se os valores calculados de ED₅₀ para o penoxsulame para os dois parâmetros avaliados, mortalidade e peso verde. As curvas de dose-resposta encontram-se no Anexo 9.

Quadro 30. Valores de ED₅₀ para todas as amostras tratadas com penoxsulame (ECHPH: *E. phyllopogon*; ECHHI – *E. crus-galli* subsp. *hispidula*).

	Amostra	Mortalidade			Peso Verde		
		ED ₅₀	(SE)	p-value	ED ₅₀	(SE)	p-value
Penoxsulame	ECHPH1	0,02	(0,627)	0,975	232,88	NA	NA
	ECHPH5	300,121	(101,641)	0,009	99,352	113,239	0,3919
Dose de campo: 40 g/ha	ECHPH6	720,91	(1662,9)	0,669	93,295	115,482	0,429
	ECHHI1	609,265	NA	NA	71,021	25,021	0,0098
	ECHHI2	525,379	NA	NA	89,696	20,833	0,0003
	ECHHI4	832,603	NA	NA	66,434	15,449	0,0005

No quadro 31 apresentam-se os fatores de resistência relativamente à população ECHPH1, suscetível de referência e relativamente à dose de campo recomendada.

Quadro 31. Fatores de resistência (FR) ao penoxsulame de cada amostra relativamente à amostra considerada suscetível de referência (AS) e à dose de campo (N) para os dois parâmetros medidos, para os dois taxa de *Echinochloa* spp. em estudo.

		Sobrevivência			Peso Verde		
		EC ₅₀	FR		EC ₅₀	FR	
			AS	N		AS	N
<i>Echinochloa phyllopogon</i> (Stapf) Ex Kossenko	ECHPH1	0,02	1	0,001	232,88	1	5,82
	ECHPH5	300,12	15006	7,50	99,35	0,43	2,48
	ECHPH6	720,91	36045,5	18,02	93,3	0,4	2,33
<i>Echinochloa crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i> (Retz) Honda			FR		EC ₅₀	FR	
		EC ₅₀	AS	N		AS	N
	ECHHI1	609,27	30463,5	15,23	71,02	0,31	1,78
	ECHHI2	525,38	26269	13,13	89,7	0,39	2,24
	ECHHI4	832,6	41630	20,82	66,43	0,29	1,66

Os fatores de resistência relativamente à sobrevivência acabam por ser bastante inflacionados pelo baixíssimo valor de EC₅₀ da população ECHPH1, que, como referido anteriormente, foi influenciado pelos valores baixos de sobrevivência nas testemunhas, o que não se deveu à aplicação de herbicida. Como tal, a população que teve um fator de resistência mais baixo foi a ECHPH5, com 15006 enquanto que a que teve um fator maior foi a ECHHI4, com 41630, ou seja, para causar 50% de mortalidade a estas amostras seria necessária a aplicação de uma dose 15006 e 41630 vezes superior, respetivamente, à dose que causa o mesmo efeito na população ECHPH1. As populações de *E. phyllopogon* tiveram um fator médio de 25525,75 enquanto que as de *E. crus-galli* subsp. *hispidula* tiveram um fator de resistência médio de 32787,5. Se se considerar a dose de campo recomendada de penoxsulame, que é de 40 g.ha⁻¹, os fatores de resistência variam entre os 7,5 para população ECHPH5 e os 20,82 da ECHHI4. Estes resultados sugerem que, ou existe resistência ao penoxsulame, ou que o herbicida não teve tempo suficiente para atuar de forma a provocar a morte às plantas, e que o tempo de espera protocolar de três semanas não foi suficiente para que o herbicida tivesse a eficácia máxima. No rótulo do produto comercial Viper® (Dow/Lusosem) está indicado que a eficácia máxima do produto se obtém passadas três a quatro semanas após a aplicação (Lusosem, 2015).

Relativamente ao peso verde, a população suscetível de referência acaba por ter um ED₅₀ superior às populações resistentes, o que vai contra os resultados obtidos no estudo de prospeção, onde tanto para o comprimento da radícula como para o comprimento do coleóptilo esta a amostra foi a mais sensível das doze estudadas. Isto pode ser explicado pela variabilidade dos dados, uma vez que, em gráfico, os valores, entre as concentrações 0 g.ha⁻¹ (T) e 10 g/ha⁻¹ (1/4N) sofrem um decréscimo mas voltam a subir (Anexo 9), descrevendo uma curva muito diferente da típica curva dose-resposta, o que levou também a que o software não conseguisse calcular um erro padrão e um p-value. Se considerar-mos os fatores de

resistência relativamente à dose de campo recomendada (40 g.ha^{-1}), os valores variam entre 1,66 e os 2,48, sem contar com a amostra ECHPH1.

Não existem muitos estudos de resistência para a espécie *Echinochloa phyllopogon*. Na Califórnia populações resistentes ao bispiribace-sódio apresentavam resistência cruzada ao penoxsulame com FR de 5-9. Os autores confirmaram que a resistência era metabólica (Yasuor et al., 2009). Em ensaios de dose resposta realizados na Turquia o penoxsulame, aplicado em doses quatro vezes superiores à recomendada, não foi eficaz no controlo de *E. phyllopogon*. O mecanismo responsável pela resistência nesta população era a insensibilidade da enzima ALS - mutação pontual com substituição de aminoácido na posição 574 – (Kaloumenos et al., 2012). Esta mutação em *E. crus-galli* provocava um nível de resistência consideravelmente mais elevado ao penoxsulame (FR > 27) (Panozzo et al., 2011). Estes dois exemplos evidenciam que mesmo mecanismos de resistência diferentes conferem níveis de resistência baixos ao penoxsulame, quando comparados com outros herbicidas e espécies de *Echinochloa*.

Os valores obtidos no nosso estudo, tal com os referentes à sobrevivência das plantas, mas com valores de ED_{50} mais baixos, também sugerem a existência de resistência ao penoxsulame.

3.2.4.2. Resistência cruzada ao profoxidime

Realizaram-se dois ensaios de resposta á dose, cada um com três populações de *Echinochloa* spp. para averiguar uma eventual resistência múltipla ao profoxidime através do efeito da gama de doses do herbicida no peso verde e na sobrevivência das plantas.

Efeito da dose recomendada (N)

No quadro 32 apresentam-se os valores da percentagem de sobrevivência e os valores médios do peso verde de três plantas para as doses de 0 g/ha (testemunha) e 100 g/ha (N).

Pela análise do quadro 32, nota-se que, excetuando a amostra ECHPH1, a dose de campo causou sempre redução na percentagem de plantas que sobreviveram à aplicação, redução essa que foi mais acentuada nas amostras de *E. crus-galli* subsp. *hispidula*. A maior redução deu-se na amostra ECHHI2, em que a percentagem de plantas sobreviventes reduziu dos 100% na testemunha para os 9,5% na dose de 100 g.ha^{-1} (N). A redução foi superior nas amostras de *E. crus-galli* subsp. *hispidula*, relativamente às amostras de *E. phyllopogon*. Na primeira, a aplicação de uma dose de 100 g.ha^{-1} provocou uma redução média de 72,1% nas plantas sobreviventes, enquanto que na segunda, a mesma dose provocou uma redução média de 7,6%.

Quadro 32. Efeito do penoxsulame na mortalidade e no peso verde de três plantas, para as doses de 0 g.ha⁻¹ (testemunha) e 100 g.ha⁻¹ (N) em 6 amostras de *Echinochloa* spp. (ECHPH - *E. phyllopogon*; ECHHI - *E. crus-galli* ssp. *hispidula*).

Sobrevivência								
Dose g.ha ⁻¹	ECHPH1		ECHPH5		ECHPH6			
	%	(SE)	%	(SE)	%	(SE)		
0 (3)	60	(16,048)	0 (2)	100	(18,334)	0 (3)	100	(5,459)
100 (3)	80	(16,048)	100 (2)	68,572	(18,334)	100 (2)	88,571	(5,459)
Dose g.ha ⁻¹	ECHHI1		ECHHI2		ECHHI4			
	%	(SE)	%	(SE)	%	(SE)		
0 (2)	100	(1,758)	0 (3)	100	(6,593)	0 (3)	100	(11,869)
100 (2)	49,048	(1,758)	100 (3)	9,524	(6,593)	100 (3)	25	(14,536)
Peso Verde								
Dose g.ha ⁻¹	ECHPH1 (3)		ECHPH5 (3)		ECHPH6 (3)			
	g	(SE)	g	(SE)	g	(SE)		
0 (3)	1,3833	(0,76)	0 (3)	5,6733	(0,852)	0 (3)	6,4167	(1,326)
100 (2)	1,64	(0,931)	100 (2)	0,525	(1,044)	100 (3)	0,8167	(1,326)
Dose g.ha ⁻¹	ECHHI1 (3)		ECHHI2 (3)		ECHHI4 (3)			
	g	(SE)	g	(SE)	g	(SE)		
0 (3)	8,1133	(1,02)	0 (3)	11,9367	(2,029)	0 (3)	8,1667	(1,932)
100 (3)	0,15	(1,02)	100	0	(2,029)	100		

Números entre parêntesis a seguir à dose indicam o número de repetições a partir das quais foi calculado o valor médio.

Relativamente ao peso verde, a redução também foi superior nas amostras de *E. crus-galli* subsp. *hispidula* relativamente às amostras de *E. phyllopogon*. Na primeira, a aplicação de 100 g.ha⁻¹ de profoxidime levou a uma redução média de 99,9% do peso verde, enquanto que na segunda, a mesma dose levou a uma redução de 57,4% do peso verde.

Resposta à dose da planta inteira

No quadro 33 apresentam-se os valores médios de percentagem de sobrevivência das plantas em vasos aplicados com várias doses de profoxidime. No quadro 38 apresentam-se os valores médios de peso verde associados a cada dose aplicada de profoxidime.

Quadro 33. Efeito do profoxidime na sobrevivência (%) em 6 populações de *Echinochloa* spp. (ECHPH - *E. phyllopogon*; ECHHI - *E. crus-galli* subsp. *hispidula*).

Dose g.ha ⁻¹	ECHPH1			g.h.	ECHPH5			g.h.	ECHPH6			g.h.
	%	(SE)			%	(SE)			%	(SE)		
0 (3)	60	(16,048)	a	0 (2)	100	(18,334)	a	0 (3)	100	(5,459)	a	
6,25 (3)	-	-	-	6,25 (2)	100	(18,334)	a	6,25 (3)	100	(5,459)	a	
12,5 (2)	83,333	(16,048)	a	12,5 (2)	100	(18,334)	a	12,5 (2)	100	(5,459)	a	
25 (2)	90	(16,048)	a	25	-	-	-	25 (2)	100	(5,459)	a	
50 (3)	100	(16,048)	a	50 (2)	00	(18,334)	a	50 (3)	100	(5,459)	a	
100 (3)	82	(16,048)	a	100 (2)	68,572	(18,334)	a	100 (2)	88,571	(5,459)	a	
200 (3)	25	(16,048)	a	200 (2)	66,667	(18,334)	a	200 (2)	52,593	(5,459)	b	
400 (3)	20	(16,048)	a	400 (2)	33,333	(18,334)	a	400 (2)	26,667	(5,459)	b	
P		0,0483		p		0,1894		p		<0,001		
F		3,9214		F		2,0209		F		26,713		
Dose g.ha ⁻¹	ECHHI1			g.h.	ECHHI2			g.h.	ECHHI4			g.h.
	%	(SE)			%	(SE)			%	(SE)		
0 (2)	100	(1,758)	a	0 (3)	100	(6,593)	a	0 (3)	100	(11,869)	a	
6,25	100	(1,758)	a	6,25 (3)	100	(6,593)	a	6,25 (3)	100	(11,869)	a	
12,5 (2)	100	(1,758)	a	12,5 (3)	100	(8,074)	a	12,5 (3)	75	(14,536)	ab	
25 (2)	100	(1,758)	a	25 (3)	100	(8,074)	a	25 (3)	100	(14,536)	ab	
50 (2)	100	(1,758)	a	50 (3)	68,352	(6,593)	b	50 (3)	86,667	(11,869)	ab	
100 (2)	49,048	(1,758)	b	100 (3)	9,524	(6,593)	c	100 (3)	25	(14,536)	b	
200 (2)	0	(1,758)	c	200 (3)	0	(6,593)	c	200 (3)	37,778	(14,536)	ab	
400 (2)	0	(1,758)	c	400 (3)	0	(6,593)	c	400 (3)	25	(14,536)	b	
p		<0,001		p		<0,001		p		0,0042		
F		680,806		F		49,426		F		6,1175		

Os valores entre parenteses após a dose significam o número de repetições a partir das quais foram calculadas as médias de percentagem de sobrevivência.
Valores seguidos da mesma letra, por coluna, não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tukey.

No Quadro 33, observa-se que, tal como no estudo de resistência ao penoxsulame, os menores valores de p-value estão associados às populações em que houve mais repetições. Todas as populações tiveram um p-value inferior a 0,05, o que indica um bom ajustamento dos dados ao modelo, exceto no caso da população ECHPH5, única cujo p-value foi superior a 0,05. Nesta população, todas as modalidades tiveram duas repetições, enquanto que nas restantes amostras houve algumas com todas as modalidades com três repetições e outras com algumas modalidades com duas e outras com três. O facto da população ECHPH5 também não ter tido resultados para os vasos em que se aplicou a dose de 25 g.ha⁻¹ (1/4N) também pode ter contribuído para a falta de ajustamento ao modelo.

No quadro 34, observa-se que todas as populações apresentaram um p-value menor que 0,05 exceto a população ECHHI4. Neste caso, isso poder-se-á dever ao facto de não haver dados para os vasos em que se aplicou a dose de campo (100 g.ha⁻¹), o que deixa um intervalo grande entre a dose de 50 g.ha⁻¹ (1/2N) e a de 200 g.ha⁻¹ (2N).

Quadro 34. Efeito do profoxidime no crescimento (peso verde – g) de 6 populações de *Echinochloa* spp. (ECHPH - *E. phyllopogon*; ECHHI - *E. crus-galli* subsp. *hispidula*).

Dose	ECHPH1			ECHPH5			ECHPH6		
g.ha ⁻¹	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.
0 (3)	1,383	(0,76)	ab	0 (3)	5,673 (0,852)	a	0 (3)	6,417 (1,326)	ab
6,25 (3)	1,233	(0,76)	ab	6,25 (2)	2,915 (1,044)	ab	6,25 (3)	6,717 (1,326)	a
12,5 (2)	4,435	(0,931)	ab	12,5 (3)	2,703 (0,852)	ab	12,5 (3)	6,360 (1,326)	ab
25 (2)	5,625	(0,931)	a	25	-	-	25 (3)	5,127 (1,326)	ab
50 (2)	1,40	(0,931)	ab	50 (2)	3,625 (1,044)	ab	50 (3)	3,637 (1,326)	ab
100 (2)	1,64	(0,931)	ab	100 (2)	0,525 (1,044)	b	100 (3)	0,817 (1,326)	ab
200 (2)	0,1	(0,931)	b	200	-	-	200 (3)	0,55 (1,326)	ab
400 (2)	1,155	(0,931)	b	400	-	-	400 (3)	0,3 (1,326)	b
p		0,015		p		0,016	p		0,053
F		4,614		F		5,049	F		2,867

Dose	ECHHI1			ECHHI2			ECHHI4		
g.ha ⁻¹	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.	g	(SE)	g.h.
0 (3)	8,113	(1,02)	a	0 (3)	11,93		0 (3)	8,167 (1,932)	a
6,25 (3)	10,383	(1,02)	a	6,25 (2)	9,867 (2,029)	ab	6,25 (3)	7,94 (1,932)	a
12,5 (3)	8,353	(1,02)	a	12,5 (2)	5,515 (2,485)	ab	12,5 (2)	5,78 (2,366)	a
25 (3)	5,95	(1,02)	ab	25 (2)	9,69 (2,485)	ab	25 (2)	6,02 (2,366)	a
50 (3)	2,113	(1,02)	bc	50 (3)	3,717 (2,029)	ab	50 (3)	5,353 (1,932)	a
100 (3)	0,15	(1,02)	c	100	0 (2,029)	b	100	-	-
200	0	(1,02)	c	200	0 (2,029)	b	200 (2)	0,215 (2,366)	a
400	0	(1,02)	c	400	0 (2,029)	b	400	-	-
p		<0,001		p		0,003	p		0,085
F		17,839		F		5,536	F		2,491

O valor, entre parenteses, em frente ao nome da amostra significa o número de repetições a partir das quais os valores médios de peso verde são calculados. Valores seguidos da mesma letra, por coluna, não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tukey.

Nos Quadros 35 e 36 apresentam-se as variações para os valores de percentagem de sobrevivência e peso verde para cada dose de profoxidime.

Pela análise dos quadros 29, 35 e 36 podemos observar uma clara diferença entre a resposta ao penoxsulame e ao profoxidime. Relativamente à percentagem de plantas sobreviventes, enquanto que no estudo com o penoxsulame não se verificavam grandes aumentos de mortalidade até às doses 80 g.ha⁻¹ (2N) e 160 g.ha⁻¹ (4N), no estudo com o profoxidime os grandes aumentos de mortalidade surgem nos vasos em que se aplicou a dose de campo recomendada de 100 g.ha⁻¹ (1N). Nos resultados do peso verde, deve-se primeiro dar atenção ao facto dos valores de peso verde das testemunhas ter sido muito mais baixo que os valores obtidos nas testemunhas do estudo de resistência ao penoxsulame, enquanto que nesse estudo as testemunhas tiveram um peso verde médio de 18,355g, as testemunhas deste

estudo tiveram apenas 6,948g de peso verde médio, ou seja, pouco mais que um terço do valor anterior. Mesmo com estes valores tão baixos para as testemunhas nota-se que à dose de 100 g.ha⁻¹, todas as amostras, já tiveram uma redução superior a 69-70%, sendo que a única exceção é a repetição II da amostra ECHPH1, que perdeu apenas um pouco menos que 40% mas relativamente a uma testemunha que apenas tinha 2,17g de peso verde, menos de um terço do peso médio das testemunhas.

O comportamento ao longo do aumento das doses nota-se algum estímulo a doses mais baixas nas amostras ECHPH1, ECHPH6 e ECHHI1, enquanto que as restantes reagem às doses com um decréscimo contínuo.

Quadro 35. Variações dos valores de sobrevivência relativamente às testemunhas. Os valores apresentam-se no formato de percentagem relativamente à testemunha.

	Repetição	Test. (%)	Concentrações (N - dose de campo)						
			6,25	12,5	25	50	100	200	400
			g.ha ⁻¹	g.ha ⁻¹	g.ha ⁻¹	g.ha ⁻¹	g.ha ⁻¹	g.ha ⁻¹	g.ha ⁻¹
ECHPH1	I	40	+40	+26,667	+40	+60	+40	+10	-40
	II	80	-	+20	+20	+20	0	-80	-40
	Média	60							
ECHPH5	I	100	0	0	-	0	-42,857	66,667	-100
	II	100	0	0	-	0	-20	0	-33,333
	Média	100							
ECHPH6	I	100	0	0	0	0	-20	-60	-80
	II	100	0	0	0	0	-14,286	-60	-60
	III	100	0	0	0	0	0	-22,22	-80
	Média	100							
ECHHI1	I	100	0	0	0	0	-50	-100	-100
	II	100	0	0	0	0	-60	-100	-100
	III	100	0	0	0	0	-42,86	-100	-100
	Média	100							
ECHHI2	I	100	0	0	-	0	-100	-100	-100
	II	100	0	-	0	-57,14	14,286	-100	-100
	III	100	0	-100	0	-37,50	14,286	-100	-100
	Média	100							
ECHHI4	I	100	0	-	-	0	-100	-80	-100
	II	100	0	-50	0	-20	-50	-44,44	-50
	III	100	0	0	0	-20	-	-	-
	Média	100							

Quadro 36. Variações dos valores de peso verde relativamente às testemunhas. Os valores de peso verde apresentam-se no formato de percentagem relativamente à testemunha.

		Repetição	Test. (g)	6,25 g.ha ⁻¹	12,5 g.ha ⁻¹	25 g.ha ⁻¹	50 g.ha ⁻¹	100 g.ha ⁻¹	200 g.ha ⁻¹	400 g.ha ⁻¹
Peso Verde (% Testemunha)	ECHPH1	I	1,050	166,667	237,143	352,381	152,38	187,619	19,048	-
		II	2,170	70,968	294,009	347,926	55,300	60,369	-	14,286
		III	0,930	44,086	-	-	-	-	-	-
		Média	1,383	93,907	265,576	350,154	103,84	123,994	19,048	14,286
	ECHPH5	I	7,820	38,747	52,941	-	35,294	7,033	-	-
		II	3,070	92,508	22,150	-	146,25	16,287	-	-
		III	6,130	-	53,670	-	-	-	-	-
		Média	5,673	65,627	42,920	-	90,774	11,660	-	-
	ECHPH6	I	8,670	43,368	108,304	101,153	45,790	6,574	-	1,038
		II	3,850	176,364	63,636	111,429	38,701	30,390	12,468	-
		III	6,730	142,645	107,578	34,473	82,318	10,550	9,212	-
		Média	6,417	120,792	93,173	82,351	55,603	15,838	10,840	1,038
	ECHHI1	I	8,710	127,784	44,546	80,138	41,217	-	-	-
		II	7,990	122,528	150,814	94,118	22,278	-	-	-
		III	7,640	133,901	119,503	43,848	12,696	5,890	-	-
		Média	8,113	128,071	104,954	72,701	25,397	5,890	-	-
	ECHHI2	I	11,930	140,738	29,673	-	7,544	-	-	-
		II	10,230	54,448	73,216	60,802	99,218	-	-	-
		III	13,650	53,040	-	96,410	0,733	-	-	-
		Média	11,937	82,742	51,445	78,606	35,832	-	-	-
	ECHHI4	I	15,570	61,978	32,113	-	42,068	-	0,963	-
		II	2,730	316,850	-	224,542	52,747	21,978	10,256	10,256
		III	6,200	89,032	105,806	95,323	130,16	-	-	-
		Média	8,167	155,953	68,960	159,932	74,992	21,978	5,610	10,256

Estimativa dos valores de ED₅₀ obtidos pelo ajustamento do modelo não linear log-logístico e dos Fatores de Resistência

No Quadro 37 apresentam-se os valores calculados de ED₅₀ para o profoxidime para os dois parâmetros avaliados. As curvas de dose-resposta encontram-se no Anexo 9.

No quadro 38 apresentam-se os fatores de resistência relativamente à amostra ECHPH1, suscetível de referência e relativamente à dose de campo recomendada.

Quadro 37. Valores de ED₅₀ para todas as amostras tratadas com profoxidime.

Quadro 07. Valores de ED ₅₀ para todas as amostras tratadas com profoxidime.								
		Mortalidade			Peso Verde			
Amostra		ED ₅₀	(SE)	p-value	ED ₅₀	(SE)	p-value	
Dose de campo: g/ha	de 100	ECHPH1	146,79	(72,29)	0,07	134,05	(110,04)	0,243
		ECHPH5	109,91	NA	NA	32,92	(68,1)	0,638
		ECHPH6	174,59	(20,26)	0	65,73	(22,23)	0,008
		ECHHI1	99,61	(0,8)	0	41,02	(6,97)	0
		ECHHI2	59,53	(4,46)	0	63,18	(81,5)	0,448
		ECHHI4	258,3	(545,74)	0,646	78,85	(26,92)	0,01

Pela análise dos quadros 37 e 38 vemos que a amostra suscetível de referência acaba por ter um ED₅₀ superior à mais de metade das restantes populações para o parâmetro da sobrevivência de plantas e maior que todas as outras amostras para o parâmetro do peso verde. Isto deve-se ao facto das testemunhas terem tido valores baixos, tanto de percentagem de plantas que sobreviveram à aplicação como de peso verde, o que faz com que seja necessário uma maior dose de herbicida para que os valores diminuam para 50% dos valores das testemunhas. Se as testemunhas tivessem tido valores semelhantes aos das outras amostras o valor de ED₅₀ e, conseqüentemente, do fator de resistência seria menor.

Se se tomar em consideração a dose recomendada de campo, de 100 g.ha⁻¹ de profloridime, podemos ver que, para a percentagem de plantas sobreviventes, as doses necessárias para causar 50% de redução, ou seja, que causa 50% de mortalidade, é superior em quase todas as amostras. Isto poder-se-á dever ao tempo protocolar entre a aplicação e a medição dos parâmetros não ser suficiente para o herbicida atingir a sua eficácia máxima (não é mencionado no rótulo o período de eficácia máxima). Relativamente ao peso verde, para todas as amostras, exceto a ECHPH1 pelo motivo já referido, calculou-se um ED₅₀ inferior à dose de campo recomendada. A amostra que mais se aproximou foi a ECHHI4, com um ED₅₀ de 78,85 g.ha⁻¹, o que leva a um fator de resistência de 0,79, relativamente à dose de campo.

Estes valores sugerem que estas amostras são suscetíveis ao profloridime o que indica a inexistência de resistência múltipla nas amostras.

Quadro 38. Fatores de resistência (FR) ao profloridime de cada amostra relativamente à amostra considerada suscetível de referência (AS) e à dose de campo (N) para os dois parâmetros medidos, para os dois taxa de *Echinochloa* spp. em estudo.

		Sobrevivência			Peso Verde		
		ED ₅₀	FR		ED ₅₀	FR	
			AS	N		AS	N
<i>Echinochloa phytolopogon</i> (Stapf) Ex Kossenko	ECHPH1	146,79	1	1,47	134,05	1	1,34
	ECHPH5	109,91	0,75	1,1	32,92	0,25	0,33
	ECHPH6	174,59	1,19	1,75	65,726	0,49	0,66
<i>Echinochloa crus-galli</i> subsp. hispidula (Retz.) Honda		ED ₅₀	FR		ED ₅₀	FR	
			AS	N		AS	N
	ECHHI1	99,61	0,68	1	41,02	0,31	0,41
	ECHHI2	59,54	0,41	0,6	63,18	0,47	0,63
	ECHHI4	258,3	1,76	2,58	78,85	0,59	0,79

3.2.4.3. Resistência metabólica ao penoxsulame

Realizaram-se dois ensaios de resposta à dose de campo de penoxsulame com e sem aplicação do inseticida clorpirifos, um inibidor do complexo enzimático citocromo P₄₅₀, numa dose de 1000 g.ha⁻¹. Totalizaram-se quatro modalidades de tratamento: vasos sem qualquer tratamento (T – testemunha), vasos com aplicação de clorpirifos (C), vasos com aplicação da dose de campo de penoxsulame de 40 g.ha⁻¹ (P) e vasos com aplicação da dose de campo de penoxsulame em conjugação com a dose anteriormente referida de clorpirifos (PC). Foram

feitos dois ensaios, um com quatro e outro com três populações de *Echinochloa* spp. para averiguar se a resistência ao penoxsulame é metabólica. Tal como nos outros estudos mediu-se o efeito da dose de campo e da aplicação de clorpirifos no peso verde.

No primeiro dos ensaios utilizaram-se as amostras ECHPH1, ECHPH5, ECHHI2 e ECHHI4 e no segundo as amostras ECHPH1, ECHPH6 e ECHHI1. As respostas médias a cada uma das modalidades apresentam-se nas figuras 28 e 29 (no Anexo 11 apresentam-se os quadros com a comparação de médias de Tuckey).

Segundo Riar *et al.* (2012), inseticidas organofosforados como o malatião e o clorpirifos inibem o funcionamento do citocromo P₄₅₀, responsável pela metabolização de herbicidas inibidores da enzima ALS. Dado isto, para que os resultados sugiram que existe resistência metabólica deverá existir um decréscimo significativo do peso verde médio nos vasos tratados com penoxsulame e clorpirifos (PC) relativamente aos vasos tratados apenas com penoxsulame, ou seja, deverá ocorrer a inibição da citocromo P₄₅₀ e, como consequência, o herbicida torna-se mais eficaz.

Pela análise das figuras 22 e 23 podemos ver que essa situação apenas se verificou em duas populações do primeiro ensaio, a ECHPH1 e ECHPH5, sendo que apenas na segunda a diferença foi significativa ao nível de significância de 5% no teste de comparação de médias de Tukey (Anexo 11). No entanto, os decréscimos foram sempre após um aumento de peso verde do tratamento com a dose de campo de penoxsulame relativamente aos vasos testemunha e tratados só com clorpirifos, o que poderá se tratar de um fenómeno de hormesis. Nas restantes amostras em estudo o peso verde médio foi sempre superior nos vasos tratados com penoxsulame e clorpirifos do que nos vasos tratados apenas com penoxsulame o que é de estranhar pois os comportamentos expectáveis seriam, no caso da resistência não ser metabólica, a manutenção do peso verde médio entre os vasos tratados com penoxsulame e os tratados com penoxsulame e clorpirifos e, no caso da resistência ser metabólica, o clorpirifos inibiria a cit-P₄₅₀, o que conferiria maior eficácia ao penoxsulame e, por conseguinte, o peso verde diminuiria. Isto pode ser algo devido simplesmente à variabilidade associada a ensaios biológicos, uma vez que, excetuando a amostra ECHHI1, todas as amostras cujo peso verde médio dos vasos tratados com penoxsulame e clorpirifos foi superior ao dos vasos tratados apenas com penoxsulame tiveram diferenças não significativas entre estas duas modalidades (Anexo 11).

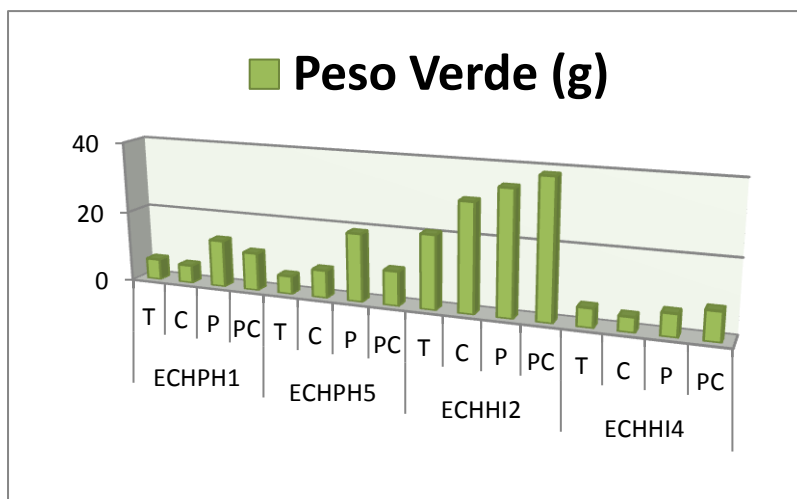


Figura 22. Respostas a quatro modalidades de tratamento de duas populações de *Echinochloa phyllopogon* (ECHPH1 e ECHPH5) e duas de *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECHHI2 e ECHHI4) (T – testemunha; C – clorpirifos; P – penoxsulame; PC – clorpirifos + penoxsulame).

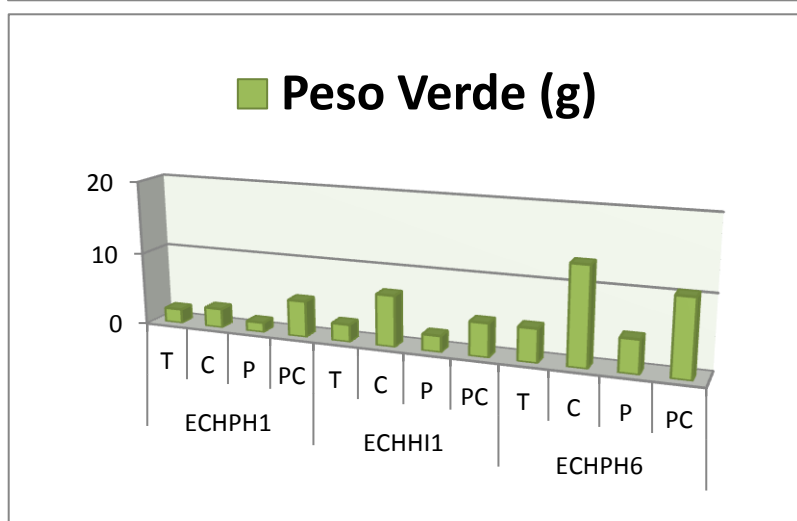


Figura 23. Respostas a quatro modalidades de tratamento de duas populações de *E. phyllopogon* (ECHPH1 e ECHPH6) e uma de *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (ECHHI1) (T – testemunha; C – clorpirifos; P – penoxsulame; PC – clorpirifos + penoxsulame).

Estes resultados sugerem que o clorpirifos não interfere no efeito do penoxsulame no peso verde e, por conseguinte, a resistência não é originada pela metabolização do herbicida. A única população em que se pode suspeitar de que a resistência seja metabólica é a ECHPH5, uma vez que o peso verde médio é inferior na modalidade de penoxsulame e clorpirifos relativamente à modalidade de penoxsulame e esta diferença é significativa segundo a comparação de médias de Tukey. No entanto apesar de ser significativamente mais baixo, o peso verde médio da modalidade de penoxsulame e clorpirifos é superior ao peso médio verificado nas modalidades sem herbicida, ou seja, as modalidades testemunha e clorpirifos.

3.2.5. Inventários florísticos;

No quadro 38 apresentam-se os valores de abundância média e frequência relativa calculados para cada uma das espécies identificadas nos levantamentos florísticos bem como as respetivas classificações de infestação.

Pela análise do quadro 38 constata-se que as espécies com menor nível de infestação (0: muito baixo) foram as espécies *Heteranthera rotundifolia* (falsa-alisma), *Polygonum*

persicaria (erva-pessegueira), *Glyceria declinata* (azevém-baboso), *Typha latifolia* (tábua-larga) e *Polygonum lapathifolium* (mal-casada), uma vez que nenhuma delas foi identificada em mais que 4% dos inventários e, nos inventários que foram, nenhuma teve uma abundância média superior a uma planta por metro quadrado.

Com um nível de infestação médio (++) referem-se as espécies *Cyperus difformis* (negrinha), *Cyperus rotundus* (junça), *Schoenoplectus mucronatus* (espeto), *Alisma plantago-aquatica* (orelha-de-mula), *Leptochloa fusca* subsp. *fascicularis* (leptocloa), *Echinochloa crus-galli* subsp. *hispidula* (milhã-branca), *Echinochloa crus-galli* subsp. *crus-galli* (milhã-pé-de-galo), *Heteranthera reniformis* (falsa-alisma), *Heteranthera limosa* (falsa-alisma), *Eragrostis pillosa*, *Paspalum dilatatum*, *Paspalum paspalodes* (graminhão), *Ammania coccinea* (carapau) e *Digitaria sanguinalis* (milhã-digitada).

As espécies que tiveram um maior nível de infestação foram as *Oryza sativa* (arroz-bravo) e *Echinochloa phyllopogon* (milhã-peluda). *Oryza sativa* foi a espécie com maior frequência relativa, estando presente em mais de 61% dos canteiros de arroz e com uma abundância média de 8,9 plantas.m⁻². *E. phyllopogon*, por sua vez, teve uma frequência relativa inferior à de *O. sativa*, com presença em mais de 51% dos canteiros mas teve uma das abundâncias maiores, com quase 12 plantas.m⁻², abundância essa apenas superada por *Heteranthera reniformis* e *Paspalum dilatatum*, com 12,46 e 35,5 plantas.m⁻² respetivamente embora com menores frequências relativas, daí o menor nível de infestação (++)

Quadro 38. Abundâncias médias, frequências relativas e respetiva classificação de infestação

Espécie	Código BAYER	Abundância Média		Frequência Relativa		Infestação
		Valor	Classificação	Valor	Classificação	
<i>Cyperus difformis</i> L.	CYPDI	8,733	3	30	25-50	++
<i>Cyperus rotundus</i> L.	CYPRO	11,500	3	1	<25	++
<i>Schoenoplectus mucronatus</i> (L.) Palla	SCPMU	6,000	3	8	<25	++
<i>Alisma plantago-aquatica</i> L.	ALSPA	3,726	3	31	25-50	++
<i>Oryza sativa</i> L.	ORYSA	8,828	3	64	>50	+++
<i>Leptochloa fusca</i> (L.) Kunth subsp. <i>fascicularis</i> (Lam.) N. Snow	LEFFA	4,420	3	25	<25	++
<i>Echinochloa crus-galli</i> subsp. <i>hispidula</i> (Retz.) Honda	ECHHI	9,661	3	31	25-50	++
<i>Echinochloa crus-galli</i> (L.) P. Beauv subsp. <i>crus-galli</i>	ECHCG	6,000	3	2	<25	++
<i>Echinochloa phyllopogon</i> (Stapf.) Koss.	ECHPH	11,991	3	55	>50	+++
<i>Heteranthera reniformis</i> Ruiz & Pavon	HETRE	12,500	3	24	<25	++
<i>Heteranthera limosa</i> (Sw.) Willd.	HETLI	9,577	3	13	<25	++
<i>Heteranthera rotundifolia</i> (Kunth) Griseb.	HETRO	0,500	1	2	<25	0
<i>Polygonum persicaria</i> L.	POLPE	0,500	1	2	<25	0
<i>Eragrostis pillosa</i> (L.) P. Beauv.	ERAPI	11,500	3	2	<25	++
<i>Glyceria declinata</i> Bréb.	GLYDE	0,500	1	1	<25	0
<i>Paspalum dilatatum</i> Poir.	PASDI	35,500	4	1	<25	++
<i>Paspalum paspalodes</i> (Michx.) Scribner	PASDS	6,500	3	12	<25	++
<i>Ammania coccinea</i> Rottb.	AMMCO	1,318	3	11	<25	++
<i>Typha latifolia</i> L.	TYHLA	0,500	1	1	<25	0
<i>Digitaria sanguinalis</i> (L.) Scop.	DIGSA	4,167	3	3	<25	0
<i>Polygonum lapathifolium</i> L.	POLLA	0,750	1	4	<25	0

Classificação de infestação: 0: muito baixa; +: baixa; ++: média; +++: alta; ++++: muito alta.

3.3. Conclusões

Na monitorização da vegetação infestante em arrozais realizada em 100 canteiros dos Concelhos de Coruche e Salvaterra de Magos, destacam-se, a abundância média e frequência relativa, respetivamente, os táxones *Oryza sativa* (arroz-bravo) com 8,8 e 64%, *Heteranthera reniformis* com 12,5 plantas.m⁻² e 24%, *E. phyllopogon* com 12,0 plantas.m⁻² e 51,4%, *E. crus-galli* subsp. *hispidula* com quase 10 plantas.m⁻² e uma frequência relativa de 30,8% e *Paspalum dilatatum* (graminhão), como a mais abundante (35,5 plantas.m⁻²), embora apenas presente num dos levantamentos.

A prospeção de resistência ao penoxsulame incidiu sobre 13 populações de *Echinochloa* spp. colhidas na mesma zona.

Das 13 populações consideradas neste estudo para a identificação da espécie, as características biométricas da cariopse enquadraram nove destas no táxone *Echinochloa phyllopogon* (Stapf) ex Kossenko, quatro no táxone *Echinochloa crus-galli* (L.) P. Beauv subsp. *hispidula* (Retz.) Honda e uma das amostras foi colocada entre os táxones *E. crus-galli* subsp. *crus-galli* e *E. crus-galli* subsp. *hispidula*. Os resultados obtidos nos levantamentos florísticos e os da identificação das sementes são dois indicadores de que o táxone de *Echinochloa* spp. mais abundante, nos arrozais dos concelhos de Coruche e Salvaterra de Magos, é a espécie *E. phyllopogon* (milhã-peluda).

Os estudos desenvolvidos para quebra de dormência das sementes dos dois táxones indicam que o mecanismo de dormência associado às sementes das duas de *Echinochloa* spp. parece estar ligado ao invólucro da semente, que poderá bloquear a absorção de água, as trocas gasosas ou simplesmente limitar fisicamente o desenvolvimento do embrião. A quebra de dormência com a escarificação química com ácido sulfúrico a 98% durante 30 segundos mostrou ser uma técnica viável para a indução da germinação.

Na prospeção de resistência em placa de Petri, após a análise das curvas dose-resposta e estimativa dos valores de EC₅₀, da espécie *E. phyllopogon* selecionou-se a população ECHPH1 como a amostra suscetível de referência e as populações ECHPH5 e ECHPH6 como resistentes. Da espécie *E. crus-galli* subsp. *hispidula* escolheram-se as populações ECHHI1, ECHHI2 e ECHHI4. Na prospeção de resistência em estufa os resultados obtidos acabaram por confirmar as evidências obtidas nas placas de Petri dado que houve comportamentos distintos entre a população suscetível de referência e as restantes. Os factores de resistência, calculados relativamente à dose recomendada, foram ligeiramente superiores nas amostras de *E. phyllopogon* (2,33-2,48) aos das amostras de *E. crus-galli* subsp. *hispidula* (1,66-2,24). Estes valores apontam para a presença de resistência a este herbicida em ambas as espécies.

O estudo para averiguar a existência de resistência múltipla ao profoxidime não revelou comportamentos díspares entre os dois táxones. Os fatores de resistência, tanto relativos aos ED₅₀ da população ECHPH1 como à dose de campo recomendada, indicam a inexistência de resistência ao profoxidime, contrariando a hipótese de resistência múltipla ao profoxidime.

Os resultados do ensaio com o clorpirifos (inibidor da actividade da enzima CitP450, que metaboliza o penoxsulame) contrariam a hipótese de que a resistência ao penoxsulame seja de origem metabólica, uma vez que nunca a aplicação do clorpirifos melhorou significativamente a eficácia do penoxsulame. Assim, admite-se que a resistência ao penoxsulame poderá ser causada por uma mutação, hipótese que precisa de confirmação.

Este trabalho mostrou a necessidade de um delineamento experimental com um maior número de repetições para reduzir a heterogeneidade que está associada a este tipo de ensaios, contribuindo para a obtenção de resultados mais significativos do ponto de vista estatístico.

Seria fundamental desenvolver estudos no domínio da biologia molecular com o objetivo de analisar se a resistência ao penoxsulame nas populações destas duas espécies de *Echinochloa* spp. resultou de alguma mutação.

IV - Referências bibliográficas

- Ahn, C.; Sparks, R.E. e White, D.C (2004). A dynamic model to predict responses of millets (*Echinochloa* spp.) to diferente hydrologic conditions for the Illinois floodplain-river. *River Research and Applications*, n. 20, p. 485-498.
- Almeida, A. e Marques, P. (2013). A importância da cultura do arroz em Portugal e no Mundo. Disponível em http://www.inia.pt/fotos/editor2/2_ppt_ana_sofia_almeida_seminario_2013_05_30.pdf. (Acesso em 19/08/2015)
- Amaro, P. (2003). *A Proteção Integrada*. ISA Press. Lisboa. 9-10 pp.
- Aoki, D. e Yamaguchi, H. (2009). *Oryza sh4* gene homologue represents homoeologous genomic copies in polyploid *Echinochloa*. *Weed Biol. Manag.*, n. 9, p. 225-233.
- Arraudeau, M. (1998). *Le riz irrigué*. Éditions Maisonneuve et Larose, Paris.
- Bagavathiannan, M.; Norsworthy, J.; Smith, K. e Burgos, N. (2011). Seedbank Size and Emergence Pattern of Barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in Arkansas. *Weed Sci.*, n. 59, p. 359-365.
- Barker, R. e Hayami, Y. (1981). Weed control practices as a component of rice production systems. In *Weed Control in Rice – Proceedings of the Conference on Weed Control in Rice*, Filipinas, p. 37-46.
- Barrett, S.C.H. (1983). Crop Mimicry in Weeds. *Economic Botany*, n. 37, p. 255-282.
- Barrada, R. (2003). The need for weed management in rice. In: *Proceedings of the 20th Session of the International Rice Commission*. Bangkok.
- Barralis, G. (1976). Méthode d'étude des groupements adventices des cultures annuelles: application à la Côte d'Or. *Vème Colloque International sur la Ecologie et Biologie des Mauvaises Herbes*, n. 1, p. 59-68.
- BASF (2015a). Guia de Uso para a tecnologia Clearfield® em Arroz. Disponível em: http://www.agro.basf.pt/agroportal/pt/media/migrated/pdf_1/Guia_Uso_Clearfield.pdf (Acesso a 03/11/2015).
- BASF (2015b). Rótulo do produto Aura. Disponível em <http://www.agro.basf.pt/agroportal/pt/media/migrated/productfiles/labels/Aura.pdf> (Acesso em 13/10/2015).
- Baskin, C. e Baskin, J. (2001). *Seeds Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press. San Diego. USA.
- BCPC, (2012). *The Pesticide Manual*. 16ª Edição. Alton, Hampshire, Reino Unido.
- Belz, R. e Duke, S. (2014). Herbicides and plant hormones. *Pest Management Sciences*, n. 70, p. 698-707.
- Boswell, V.R. (1961). Flowering habit and production of seeds. In: *USDA (1961). Seeds: The Yearbook of Agriculture*, Washington, DC, p. 57.

- Bradely, K.; Wu, J.; Hatzios, K. e Hagood, E. (2001). The mechanism of resistance to arylophenoxypropionate and cyclohexanodione herbicides in Johnson grass biotype. *Pestic. Biochem. Physiol.*, n. 46, p. 207-218.
- Beltrão, N. e Oliveira, M. (2007). *Biossíntese e Degradação de Lípidos, Carboidratos e Proteínas em Oleaginosas*. Embrapa Algodão. Campina Grande, Brasil. p. 33.
- Bewley, J.D. e Black, M. (1982). *Physiology and biochemistry of seeds in relations to germination*. New York, SpringerVerlag, 306 p.
- Busi, R. e Powles, S.B. (2009). Evolution of glyphosate resistance in a *Lolium rigidum* population by glyphosate selection at sublethal doses. *Heredity*, n. 103, p. 318-325.
- Busi, R.; Vila-Aiub, M.e Powles, S. (2011). Genetic control of a cytochrome P450 metabolism-based herbicide resistance mechanism in *Lolium rigidum*. *Heredity*, n. 106, p. 817-824.
- Calha, I. (2006). *Resistência adquirida ao herbicida bensulfurão-metilo em populações de Alisma plantago-aquatica L.* Doutorado em Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa.
- Calha, I. (2011). Mecanismos de resistência a herbicidas e resistências cruzadas. In: *Agrorural: Contributos Científicos*. Instituto Nacional de Recursos Biológicos, I. P. e Imprensa Nacional-Casa da Moeda, S.A.
- Calha, I.; Machado, C. e Rocha, F. (1995). A resistência da orelha-de-mula, colhereira ou colhereiro (*Alisma spp.*) ao herbicida bensulfurão metilo em arrozais. *Folheto de Divulgação*. IPPAA. CNPPA.
- Calha, I., Machado, C. e Rocha, F. (1999). Resistance of *Alisma plantago-aquatica* to sulfonylurea herbicides in Portuguese rice fields. *Hydrobiologia*, n. 415: p. 289-293.
- Carretero, J. (1981). El género *Echinochloa* Beauv. en el Suroeste de Europa. Cátedra de Botánica Agrícola. E. T. S. Ingenieros Agrónomos. Valencia.
- Chauhan, B. e Johnson, D. (2011). Ecological studies on *Echinochloa crus-gali* and the implications for weed management in direct-seeded rice. *Crop Protection*, n. 30, p. 1385-1391.
- Christopher, J.T.; Preston, C. e Powles, S.B. (1994). Malathion antagonizes metabolism-based chlorsulfuron resistance in *Lolium rigidum*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, n. 49, p. 172-182 pp.
- CISEH (Center for Invasive Species and Ecosystem Health) (2015). *Echinochloa*. Disponível em <http://www.invasive.org/browse/Taxthumb.cfm?fam=395&genus=Echinochloa&Area=75> (Acesso a 03/11/2015).
- Costa, C. J. e Villela, F. A. 2006. Osmotic conditioning of beet seeds. *Revista Brasileira de Sementes*, n. 28, p. 21-29.

- COTArroz (2007). Principais infestantes. Ficha técnica nº 6. Disponível em <http://www.cotarroz.pt/UserFiles/File/FichasTecnicas/FICHA6.pdf> (Acedido em 23/09/2015).
- Cronquist, A. (1981). An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press.
- Cunha, R. (1985). Contribuição para o estudo da munda química dos arrozais ensaio de eficácia e fitotoxicidade de alguns herbicidas específicos para o combate às milhãs. Relatório de atividade do aluno estagiário do curso de Engenheiro Agrônomo. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- Datta, S. (1981). Principles and Practices of Rice Production. John Wiley. New York. Estados Unidos da América.
- Datta, S. e Baltazar, A. (1996). Weed control and technology as a component of rice production system. In: Auld, B.A. e Kim, K.U. (1996). Weed management in rice. FAO Plant Production and Protection Paper 139, Roma, p. 27-52.
- Dekker, J. e Duke, O. (1995) Herbicide Resistant Field Crop. Advances in Agronomy, n. 54, p. 69-116.
- DePrado, R.; Gutierrez, J.; Monendez, J., Gasquez, J., Grownwald, J. e Espinosa, R. (2000). Resistance to acetyl CoA carboxylase inhibiting herbicides in *Lolium multiflorum*. Weed Science, n. 48, p. 311-318.
- Desai, B.; Kotecha, P. e Salunkhe, D. (1997). Seeds Handbook: Biology, Production and Storage. Marcel Dekker. Nova Iorque. Estados Unidos da América.
- Dias, M. (1998). Infestantes dos arrozais do Baixo Tejo e Baixo Sorraia. Relatório Global. Escola Superior Agrária de Santarém. Instituto Politécnico de Santarém. Santarém. Portugal.
- Di Nola, L. e Taylorson, R.B (1990). Ultrastructural changes in radicles of barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv.) seed during transition from dormancy to germination. Israel Journal of Botany.
- Duke, J. (1978). The quest for tolerant germplasm. In: ASA Special Symposium 32. Crop tolerance to suboptimal land conditions. AM. Soc. Agron. Madison, Estados Unidos da América, p. 1-61.
- DuPont (2002). Identificación de Malas Hierbas en el cultivo del Arroz. DuPont Ibérica.
- Eberlein, C.; Guttieri, M., Berger, P.; Fellman, J.; Mallory-Smith, C.; Thill, D.; Baerg, R. e Belknap, W. (1999). Physiological consequences of mutation for ALS-inhibitor resistance. Weed Sci., n. 47, p. 383-392.
- FAO (1996). Weed management in rice. In: FAO Plant Production and Protection. Paper 139. Roma.

- FAO (2014). A regional rice strategy for sustainable food security in Asia and the Pacific. Final Edition. Disponível em <http://www.fao.org/3/a-i3643e.pdf>. Acesso em 19/08/2015.
- Fischer, A.; Bayer, D.; Carriere, M.; Ateh, C. e Yim, K. (2000a). Mechanisms of resistance to bispyribac-sodium in an *Echinochloa phyllopogon* accession. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, n. 68, p. 156-165.
- Fischer, A., Ateh, C., Bayer, D. e Hill, J. (2000b). Herbicide-resistant *Echinochloa oryzoides* and *E. phyllopogon* in California *Oryza sativa* fields. *Weed Science*, n. 48, p. 225-230.
- Flint, M. (1983). *Integrated Pest Management for Rice*. The regents of the University of California. Davis.
- Forner, M. (1993). Control de arroz selvaje en los arrozales del delta del Ebro con o sin adición de molinado mediante la técnica del fangueado. In: Congreso de 1993 de la Sociedad Española de Malherbología, p. 205-208.
- Fox, T. M., C.; Andrews, D.; Williams, A.; Cobb, B.; Kennedy, R. e Rumpho, M. (1995). Identification and gene expression of anaerobically induced enolase in *Echinochloa phyllopogon* and *Echinochloa crus-galli*. *Plant Physiology*, n. 109, p. 433-443.
- Franco, J. & Afonso, R. (1998). Nova Flora de Portugal (Continente e Açores). Gramineae. 3ª Edição, 221-223 pp.
- Fukao, T.; Kennedy, R.; Yamasue, Y. e Rumpho, M. (2003). Genetic and biochemical analysis of anaerobically induced enzymes during seed germination of *Echinochloa crus-galli* varieties tolerant and intolerant of anoxia. *Journal of Experimental Botany*, n. 54, p. 1421-1429.
- Galinato, M.; Moody, K. e Piggin, C. (1999). *Upland Rice Weeds of South and Southeast Asia*. International Rice Research Institute. Los Baños. Filipinas.
- Gealy, D., Estorninos Jr., L., Gbur, E. e Chavez, R. (2005). Interference interactions of two rice cultivars and their F3 cross with barnyardgrass (*Echinochloa crus-galli*) in a replacement series study. *Weed Science*, n. 53, p. 323-330.
- Global Facilitation Unit (2009). *Minor Millets*. Global Facilitation Unit for Underutilized Species. Rome.
- Gressel, J. (1990). Synergizing herbicides. *Weed Science*, n. 5, p. 49-82.
- Gressel, J., 2002. *Molecular Biology of Weed Control*. Taylor and Francis Group. Londres, Reino Unido. 504 p.
- Gronwald, J.; Eberlein, K.; Baerg, R.; Ehlke, N. e Wyse, D. (1992). Mechanism of diclofop resistance in Italian rye grass (*Lolium multiflorum* Lam.) biotype. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, n. 45, p. 81-90.
- Heap, I. (1999). International survey on herbicide resistant weeds: lessons and limitations. In: *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference Weeds*, p. 769-777.

- Heap, I. (2015). International Survey on herbicide resistant weeds. Disponível em: <http://weedscience.org/details/case.aspx?ResistID=307>. Acesso em 19/08/2015.
- Holm, L., Plucknett, J., Pancho e Herberger, J. (1977). The World's Worst Weeds. Distribution and biology. East-West Center, University Press of Hawaii, Honolulu, USA, 32-46 p.
- Hooley, R. (1994). Gibberellins: perception, transduction and responses. *Plant Molecular Biology*, n. 26, Dordrecht, p. 1529-1555.
- HRAC (1996). Classification of Herbicides according to Mode of Action. Herbicide Resistance Action Comitee. Leverkusen. Alemanha.
- HRAC (2015). Management of Herbicide Resistance. Disponível em: <http://www.hracglobal.com/pages/managementofherbicideresistance.aspx#guidelines>. Acesso a 19/10/2015.
- HYPPA (2015). *Echinochoa phyllopogon* (Stapf) Koss. Unité de Malherbologie & Agronomie. INRA-Dijon. Disponível em: http://www2.dijon.inra.fr/hyppa/hyppa-f/echph_fh.htm (Acesso a: 04/11/2015).
- Ismail, A.; Johnson, D.; Ella, E.; Vergara, G. e Baltazar, A. (2012). Adaptation to flooding during emergence and seedling growth in rice and weeds, and implications for crop establishment. *AoB PLANTS* 2012. doi:10.1093/aobpla/pls019.
- Iwakami, S.; Endo, M.; Saika, H.; Okuno, J.; Nakamura, N.; Yokoyama, M.; Watanabe, H.; Toki, S.; Uchino, A. e Inamura, T. (2014). Cytochrome P450 CYP81A12 and CYP81A21 Are Associated with Resistance to Two Acetolactate Synthase Inhibitors in *Echinochloa phyllopogon*. *Plant Physiology*, n. 165, p. 618-629.
- Jones, H. (1999). 'Seeds get a wake-up call' - Dormancy, a survival mechanism for seeds, or a useful tool for agriculture. *The Biologist*. n. 46, p. 65-69.
- Kaloumenos, N., Chatzilazaridou, S., Mylona, P., Polidoros, A. e Eleftherohorinos, G. (2012). Target-site mutation associated with cross-resistance to ALS-inhibiting herbicides in late watergrass (*Echinochloa oryzicola* Vasing.). *Pesticide Management Science*, n. 69, p. 865-873.
- Kato-Noguchi, H. (2011). Barnyardgrass-induced rice allelopathy and momilactone B. In: *Journal of Plant Physiology*, n. 168, p. 1016-1020.
- Kennedy, R.; Rumpho, M. e Fox, T. (1987). Germination physiology of rice and rice weeds: metabolic adaptations to anoxia. In: Crawford, R.M.M. (1987). *Plant life in aquatic and amphibious habitats*. Oxford, UK: Blackwell Scientific, p. 193-203.
- Kim, K. U. (1994). Ecophysiology of *Echinochloa* species and their management. In: Sastroutomo, S.S. e Auld, B.A. *Appropriate weed control in southeast Asia*. Proceedings of FAO-CAB International workshop, Kuala Lumpur, Malaysia, 17-18 May. CAB International, Wallingford, UK. P. 18-26.

- Knezevic, S., Streibig, C. e Ritz, C., 2007. Utilizing R Software Package for Dose-Response Studies: The Concept and Data Analysis. *Weed Technology*, n. 21, p. 840-848.
- Li, J.; Guo, X.; Zhang, Q.; Liu, C.; Lin, Z.; Yu, Z.; Wu, H. e He, H. (2015). A novel screening method for rice allelopathic potential: the inhibitory-circle method. *European Weed Research Society*, n. 55, p. 441-448.
- Linnaeus, C. (1753). *Species Plantarum*. Laurentius Salvius, Estocolmo, Suécia.
- Lusosem (2015). Rótulo do produto comercial Viper. Disponível em: <http://www.lusosem.pt/mediaRep/lusosem/files/Produtos/Rotulos/viper.pdf> (Acesso em 03/11/2015).
- Matias, J. (2000). Acompanhamento das Tecnologias de Produção de Arroz no Vale do Sado. Relatório de Final de Curso de Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa. 76 p.
- Maun, M. e Barrett, S. (1986). The biology of Canadian weeds. 77. *Echinochloa crus-galli* (L.) Beauv. *Canadian Journal of Plant Science*, n. 66, p. 739-759.
- Medina, N. (2005). Contribuição para o estudo do táxone *Echinochloa* nos arrozais. Relatório de Fim de Curso de Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa. 45 p.
- Mendes, S. (2011). Resistência ao glifosato em populações de *Conyza canadensis* L. no Alentejo. Mestrado em Produção Integrada. Escola Superior Agrária de Beja. Instituto Politécnico de Beja.
- Michael, P. (2003). *Echinochloa* P. Beauv. Em: *Flora of North America, North Mexico*. Vol. 25, Oxford University Press, Oxford, p. 390-403.
- Michez, M. e Guillermin, J. (1984). Signalement écologique et degré d'infestation des adventices des cultures d'été en Lauragais. Em: 7^{ème} Coll. Int. Ecol. Biol. Mauvaises Herbes, 1^a Edição, p. 155-162.
- Monteiro, A. (1986). Infestantes dos arrozais. Disciplina de herbologia. Curso de Mestrado em Produção Vegetal. H5-86. 16pp.
- Mora, L. (2005). Resistência cloroplástica à atrazina em populações de *Chenopodium album* (catassol) na cultura do milho. Relatório do trabalho de fim de curso. Universidade de Évora. p. 154.
- Moreira, I.; Vasconcelos, T.; Caixinhas, L. e Espírito Santo, D. (2000). Ervas daninhas das vinhas e pomares. Direção Geral da Proteção das Culturas.
- Moreno, J. (2004). Mecanismos de resistência a herbicidas inibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (ACCase) en especies del género *Echinochloa*. Tese Doutoral Europeia. Universidade de Córdoba. Espanha. p. 72.
- Moss, S. (1999). Detecting Herbicide Resistance. Herbicide Resistance Action Committee. Rothamstead Research. Harpenden, Hertfordshire, Reino Unido.

- Mujer, C.; Rumpho, M., Lin, J. & Kennedy, R. (1993). Constitutive and inducible aerobic and anaerobic stress proteins in the *Echinochloa* complex and rice. *Plant Physiology* 101: 217-226.
- Neighbors, S. e Privalle, L. (1990). Metabolism of primisulfuron by barnyardgrass. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, n. 37, p. 145-153.
- Neves, M. (1986). A munda química na cultura do arroz. Relatório de estágio do curso de Engenheiro Agrônomo. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.
- Nikolaeva, M. (1969). Physiology of deep dormancy in seeds. Izdatel'stvo "Nauka", Leningrad [Translated from Russian by Z. Shapiro, National Science Foundation, Washington, DC]
- Nikolaeva, M.G. (1977). Factors controlling the seed dormancy pattern. Em: Khan, A.A. The Physiology and Biochemistry of Seed Dormancy and Germination. North-Holland, Amsterdam/New York, p. 51-74.
- Norsworthy, J.; Ward, S.; Shaw, D.; Llewellyn, R.; Nichols, R. e Webster, T. (2012). Reducing the Risks of Herbicide Resistance: Best Management Practices and Recommendations. *Weed Science*, Edição Especial, p. 31-62.
- Numa, S. (1984). Fatty Acid Metabolism and it's Regulation. Faculdade de Medicina. Universidade de Quioto. Quioto. Japão. p. 3.
- OEPP (2015). Bayer Codes for Pests. Disponível em <http://www.cipm.info/names/index.cfm>. Acesso a 11/12/2015.
- Oerke, C. e Dehne, H. (2004). Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection*, n. 23, p. 275-285.
- Oliveira Jr., R.; Constantin, J. e Inoue, M., (2011). Mecanismos de Ação de Herbicidas. Em: *Biologia e Manejo de Plantas Daninhas*. Omnipax. Curitiba, Brasil, p.172.
- Pacheco, P. (2015). Gestão das Infestantes do Arroz. Orivárzea – Orizicultores do Ribatejo, S.A.. Relatório de Estágio para a obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica, especialização em Proteção de Plantas. Instituto Superior de Agronomia. Universidade de Lisboa. Lisboa.
- Panozzo, S., Scarabel, L., Tranel, P e Sattin, M. (2013). Target-site resistance to ALS inhibitors in the polyploid species *Echinochloa crus-galli*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, n. 105, p. 93-101.
- Pantoja, A., Fischer, A., Correa-Victoria, F., Ramírez, A. e Sanint, L. (1997). MIP en arroz. Manejo Integrado de Plagas. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Caracas.
- Partohardjono, S. & Jansen, P. (1996). *Echinochloa* P. Beauvois. In: Gruben, G.H.G. e Partohardjono, S. *Plant Resources of South-East Asia* No. 10. Cereals. Backhuys Publishers, Leiden. p 87-90.

- Pearce, D.; Hall, K. e Jackson, M. (1992). The effects of oxygen, carbon dioxide and ethylene on ethylene biosynthesis in relation to shoot extension in seedlings of rice (*Oryza sativa*) and barnyard grass (*Echinochloa oryzoides*). *Annals of Botany*, n. 69, p. 441-447.
- Pearce, D. e Jackson, M. (1991). Comparison of growth responses of barnyardgrass (*Echinochloa oryzoides*) and rice (*Oryza sativa*) to submergence, ethylene, carbon dioxide and oxygen shortage. *Annals of Botany*, n. 68, p. 201-209.
- Pereira, M., Dias, D., Dias, L. e Araujo, E. (2008). Germination and vigor of carrot seeds primed in moistened paper and aerated solution. *Revista Brasileira de Sementes*, n. 30, p. 137-145.
- Portero, M. (2001). *Cultivo del arroz en el Sur de España*. Lince Artes Gráficas, Sevilla.
- Portugal, J.; Vasconcelos, T. e Moreira, I. (2000). *Flora infestante da cultura do tomate*. Escola Superior Agrária de Beja.
- Preston, C.; Tardif, F.; Cristopher, J. e Powels, S. (1996). Multiple resistance to dissimilar herbicide chemistries in a biotype of *Lolium rigidum* due to enhanced activity of several herbicide degrading enzymes. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, n. 54, p. 123-134.
- PubChem (2015). Open Chemistry Database. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Acesso a 03/11/2015).
- R Core Team (2013). *R: A language and environment for statistical computing* (ed R Foundation for Statistical Computing). R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Ramakrishnan, P. (1960). Ecology of *Echinochloa colona* Link. In: *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*, n. 11, p. 37-92.
- Recasens, J. e Cosena, J. (2009). *Malas hierbas en plántula. Guia de Identificacion*. Universidade de Lleida.
- Riar, D., Norsworthy, J.; Bond, J.; Bararpour, M.; Wilson, M. e Scott, R. (2012). Resistance of *Echinochloa crus-galli* populations to Acetolactate Synthase-Inhibiting herbicides. *International Journal of Agronomy*. Hindawi Publishing Corporation, p. 8.
- Rosa, M. L. e Espírito Santo, M. D. (1984). Evolution des mauvaises herbes de rizières portugaises. In: *EWRS 3rd Symposium on Weed Problems in the Mediterranean Area*, n. 2, p. 411-417.
- Roso, A., Merotto Jr., A., Delatorre, C. e Menezes, V. (2010). Regional Scale Distribution of imidazolinone herbicide-resistant alleles in red rice (*Oryza sativa* L.) determined through SNP markers, *Field Crops Research*, n. 119, p. 175-182.
- Rubin, B. (1991). Herbicide resistance in weeds and crops, progress and prospects. In: Powles, S.B. e Holtum, J.A.M. *Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry*. Lewis Publishers, Boca Raton, p. 83-140.

- Rumpho, M. e Kennedy, R. (1983a). Activity of the pentose phosphate and glycolytic pathways during anaerobic germination of *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass) seeds. *Journal of Experimental Botany*, n. 155, p. 1-7.
- Rumpho, M. e Kennedy, R. (1983b). Anaerobiosis in *Echinochloa crus-galli* (barnyard grass) seedlings. Intermediary metabolism and ethanol tolerance. *Plant Physiology*, n. 72, p. 44-49.
- Schultz, E., Freeman, B. e Reed, R. (1968). The livestock poisoning plants in Arizona. University of Arizona Press, Tucson.
- Senero, M.; Romano, Y.; González-Blanco, J.; Gordillo, J. e Osuna, M. (2011). Control de *Echinochloa* spp. en arrozales en Extremadura. In: XII Congresso de la Sociedad Española de Malherbologia. La Laguna, Espanha.
- Serra, S. (2005). A problemática dos herbicidas na cultura do arroz. Relatório do Trabalho de Fim de Curso de Engenharia Agronómica. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.
- Simões, J. (1967). Monda química nos arrozais. Contribuição para o estudo de alguns herbicidas. Relatório Final do Curso de Engenheiro Agrônomo. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- Sparacino, A. (1993). Biología y control de malas hierbas en condiciones mediterráneas. Centro Internacional de altos Estudios Agronómicos Mediterráneos – European Weed Research Society, 7 pp.
- Stidham, M. (1991). Herbicides that inhibit acetohydroxyacid synthase. *Weed Science*, n. 39, p. 425-434.
- Szilvássy, L. (1976). Contribution to the biology of some *Echinochloa* species in rice fields. II *Riso*, n. 25, Vol. 4, p. 305-312.
- Tanabata, T., Shibaya, T., Hori, K., Ebana, K. e Yano, M. (2012). Smartgrain: High-Throughput Phenotyping Software for Measuring Seed Shape through Image Analysis. *Plant Physiology*, n. 160, p. 1870-1880.
- Tharayil-Santhakumar, N. (2003). Mechanism of Herbicide Resistance in Weeds. University of Massachusetts, Amherst, EUA.
- Togashi, K. (1942). A survey of the plant diseases of cultivated plants in Iwate Prefecture in 1941. Bulletin 8. Iwate Agricultural Experiment Station, Morioka, p. 25.
- Toh, H.; Hondo, H. e Tanebe, T. (1993). Molecular evolution of biotin-dependent carboxylases. *European Journal of Biochemistry*, n. 215, p. 687.
- Tranel, P. e Wright, T. (2002). Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: What do we have learned? *Weed Science*, n. 50, p. 700-712.
- Tutin, T., Keywood, V., Bueges, N., Moore, D., Valentine, D., Walters, S. e Webb, D. (1980). *Flore Europaea V*. Cambridge Univ. Press.

- Valverde, B., Riches, J. e Caseley, J. (2001). Modified herbicide regimes for propanil-resistant junglerice in rain-fed rice. *Weed Science*, n. 49, p. 395-405.
- Vasconcelos, T. e Luzes, D. (1990). Ervas daninhas dos arrozais. Rhone-Poulenc.
- Vengris, J; Kacperska-Palacz, A. e Livingston, R. (1966). Growth and development of barnyardgrass in Massachussets. *Weeds*, n. 14, p. 299-301.
- Vidal, R.; Lamego, F. e Trezzi, M. (2006). Diagnóstico da Resistência aos Herbicidas em Plantas Daninhas. *Planta Daninha*, n. 3, Vol. 24, p. 597-604.
- Viggiani, P.; Tabacchi, M. e Angelini, R. (2003). Vegetazione spontanea di risaie e canali. *L'Informatore Agrario*. Itália.
- Whitehead, C. e Switzer, C. (1963). The differential response of strains of wild carrot to 2,4-D and related herbicides. *Canadian Journal Plant Sciences*, n. 43, p. 255-262.
- Wrubel, R. e Gressel, Z. (1994). Are herbicide mixtures useful for delaying the rapid evolution of resistance? A case study. *Weed Technology*, n. 8, p. 635-648.
- WSSA (1998). *Weed Technology*. Volume 12. Issue 4. p. 789.
- Yamaguchi, S. e Kamiya, Y. (2002). Gibberellins and Light-Stimulated Seed Germination. *Journal of Plant Growth Regulation*, Vol. 20, Nova Iorque, p. 369-376,
- Yamaguchi, H.; Utano, A.; Yasuda, K., Yano, A e Soejima, A. (2005). A molecular phylogeny of wild and cultivated *Echinochloa* in East Asia inferred from non-coding region sequences of trn T-L-F. *Weed Biology and Management*, n. 5, p. 210-218.
- Yabuno, T. (1981). Cytological relationship between *Echinochloa oryzicola* (Vasing.) Koss. *Cytologia*, n. 46, p. 393-396.
- Yabuno, T. (1983). Biology of *Echinochloa* species. In: *Proceeding of the Conference on Weed Control in Rice*, Aug. 31st - Sep. 4th, 1981. Philippines International Rice Research Institute, Los Baños, Filipinas, p. 307-318.
- Yausor, H., Osuna, M., Ortiz, A., Saldain, N., Eckert, J e Fischer, A. (2009). Mechanism of Resistance to Penoxsulame in Late Watergrass [*Echinochloa phyllopogon* (Stapf.) Koss.]. *Journal of Agriculture Food and Chemistry*, n. 57, p. 3653-3660.
- Ye, C; Lin, Z; Li, G.; Wang, Y; Qiu, J.; Fu, F.; Zhang, H.; Chen, L.; Ye, S.; Song, W.; Jin, G.; Zhu, J.; Lu, Y., Guo, L. e Fan, L. (2014). *Echinochloa* Chloroplast Genomes: Insights into the Evolution and Taxonomic Identification of Two Weedy Species. *PLoS ONE*, n. 9, Vol. 11, p. 2.
- Ze Pu Zhang. (2001). Weed management in rice in China. In: *FAO Workshop on Echinochloa spp. Control*. May 27th, Beijing, China.
- Zhang, F.; Lin, J.; Fox, T.; Mujer, C.; Rumpho, M. e Kennedy, R. (1994). Effect of aerobic priming on the response of *Echinochloa crus-galis* to anaerobic stress. *Plant Physiology*, n. 105, p. 1149-1157.

Anexos

Anexo 1. 11 Princípios da Produção Integrada, segundo Amaro (2003).

1º A produção integrada não é uma mera combinação da proteção integrada com elementos adicionais, como os adubos e as práticas agronómicas, visando aumentar a sua eficácia, mas é baseada na regulação do ecossistema, na importância do bem-estar dos animais e na preservação dos recursos naturais;

2º A minimização dos efeitos secundários inconvenientes decorrentes das atividades agrícolas;

3º A exploração agrícola no seu conjunto é a unidade de implementação da produção integrada;

4º A reciclagem regular dos conhecimentos do empresário agrícola sobre produção integrada;

5º A manutenção da estabilidade dos ecossistemas;

6º O equilíbrio do ciclo dos nutrientes, reduzindo as perdas ao mínimo;

7º A preservação e a melhoria da fertilidade intrínseca do solo;

8º O fomento da biodiversidade;

9º A qualidade dos produtos agrícolas deve ser avaliada por parâmetros ecológicos, além dos critérios clássicos de qualidade, externos e internos;

10º O bem-estar dos animais, produzidos na exploração agrícola, deve ser tomado em consideração;

11º A proteção integrada é a orientação obrigatoriamente adotada em proteção das plantas.

Anexo 2. Pesagem das amostras de sementes de *Echinochloa* spp.

Data colheita	Amostra	Peso (g)
3/10/2014	ECH1B	9,44
	ECH2B	15,06
	ECH3B	12,56
	ECH4B	7,80
24/10/2014	ECH1	19,40
	ECH2	16,87
	ECH3	5,68
	ECH4	1,35
	ECH5	60,64
	ECH6	6,11
	ECH7	27,93
	ECH8	17,34
	ECH9	14,23

Anexo 3. Mecanismos de resistência em *Echinochloa* spp. registrados pelo *International Survey of Herbicide Resistant Weeds* em cultura de arroz.

Infestante	Nº casos	Nº casos em arroz	Em arroz (modos de ação em código HRAC)		
			Resistência Simples	Resistência Cruzada	Resistência Múltipla
<i>E. colona</i>	25	18	bispiribace-sódio (B) - 2 casos	cialofope-butilo, fenoxaprop-p-etilo, fluazifope-p-butilo, haloxifop-p-metilo (A) - 1 caso	azimsulfurão, fenoxaprop-p-etilo e propanil (A/B/C ₂) - 1 caso
			propanil (C ₂) - 7 casos		bispiribace-sódio, cialofope-butilo, imazapic e imazapir (A/B) - 1 caso
			quincloraque (O) - 1 caso		imazetapir, propanil e quincloraque (B/C ₂ /L) - 1 caso
			fenoxaprop-p-etilo (A) - 2 casos		fluazifope-p-butili e glifosato (A/G) - 1 caso
					bispiribace-sódio, cialofope-butili e propanil (A/B/C ₂) - caso 1
			quincloraque (O) - 4 casos	fenoxaprop-p-etil e quizalofope-p-etilo (A) - 1 caso	bispiribace-sódio, imazetapir, penoxsulame e quincloraque (B/O) - 1 caso
<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>crus-galli</i>	43	30	butacloro (K ₃) - 1 caso	azimsulfurão, bispiribace-sódio, imazamox, nicosulfurão e penoxsulame (B) - 1 caso	azimsulfurão, bispiribace-sódio, cialofope-butilo, imazamox, penoxsulame e profoxidime (A/B) - 1 caso
			tiobencarbe (N) - 1 caso	cialofope-butilo e profoxidime (A) - 1 caso	butacloro e propanil (C ₂ /K ₃) - 1 caso
			penoxsulame (B) - 1 caso	cialofope-butilo, fenoxaprop-p-etilo e quizalofope-p-tefurilo (A) - 1 caso	azimsulfurão, bensulfurão-metilo, bispiribace-sódio, cialofope-butilo, fenoxaprop-p-etilo, flucetosulfurão, halosulfurão-metilo, imazosulfurão, metamifop, pirazosulfurão-etilo, piribenzoxime e piriminobace-metilo (A/B) - 1 caso
			propanil (C ₂) - 7 casos	imazapic e imazetapir (B) - 1 caso	bispiribace-sódio, cialofope-butilo, e penoxsulame (A/B) - 1 caso
			cialofope-butilo - 1 caso		propanil e quincloraque (C ₂ /O) - 1 caso
			clomazona (F ₃) - 1 caso		cialofope-butilo, fenoxaprop-p-etilo, molinato e tiobencarbe (A/N) - 1 caso

			imazetapir (B) - 1 caso		fenoxaprop-p-etilo, imazamox, imazetapir, propanil e quincloraque (A/B/C ₂ /L) - 1 caso
<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>formosensis</i>	2	2	cialofope-butilo (B) - 1 caso		cialofope-butilo e penoxsulame (A/B) - 1 caso
<i>E. crus-galli</i> subsp. <i>zelayensis</i>	1	1	quincloraque (O) - 1 caso		
<i>E. crus-pavonis</i>	1	1	quincloraque (O) - 1 caso		
<i>E. erecta</i>	2	2	propanil (C ₂) - 1 caso		propanil e quincloraque (C ₂ /O) - 1 caso
<i>E. oryzoide</i> s	2	2		molinato e tiobencarbe (N) - 1 caso	bispiribace-sódio, cialofope-butilo e penoxsulame (A/B) - 1 caso
			penoxsulame (B) - 1 caso		azimsulfurão, bensulfurão-metilo, bispiribace-sódio, cialofope-butilo, fenoxaprop-p-etilo, halosulfurão-metilo, imazosulfurão, metamifop, pirazosulfurão-etilo, piribenzoxime e piriminobace-metilo (A/B) - 1 caso
<i>E. phyllopogon</i>	5	5			cialofope-butilo, fenoxaprop-p-etilo, molinato e tiobencarbe (A/N) - 1 caso
			fenoxaprop-p-etilo (A) - 1 caso		
			tiobencarbe (N) - 1 caso		

(Adaptado de Heap, 2015)

Anexo 4. Registo das temperaturas na estufa do INIAV (31/03/2015-05/07/2015).

Mês	Março
Dia	31
T _{min} (°C)	15.8
T _{máx} (°C)	24.2
T _{méd} (°C)	17.94

Mês	Abril														
Dia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
T _{min} (°C)	15,7	13,3	12,9	12,1	16,9	14	15,9	15	14,2	14,2	13,7	13,3	15,2	17,6	15,8
T _{máx} (°C)	23,1	28,3	26,3	23	26,5	33,6	30,3	20,6	29	26,4	30,1	23,8	31,2	28,9	31,4
T _{méd} (°C)	17,7 2	19,3 2	17,8 4	17,1 0	19,8 9	21,8 1	20,9 9	17,7 5	19,6 3	18,3 0	19,98	16,48	22,51	21,04	20,95
Mês	Abril														
Dia	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
T _{min} (°C)	12	14,5	12,9	12,1	11,6	13,4	14,6	12,9	16,4	17,5	15,4	13,5	13,8	12,7	13
T _{máx} (°C)	30,1	28,8	24,4	23,4	28	30,6	27,9	28,8	25,2	23,7	23,8	25,5	26,2	28,1	29,9
T _{méd} (°C)	20,5 8	20,4 0	18,4 8	15,7 8	19,2 9	20,7 8	20,9 0	19,7 5	19,2 5	19,6 1	18,03	19,18	19,58	19,43	21,38

Mês	Maio															
Dia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
T _{min} (°C)	16,5	17	18,8	17,8	13,7	12,2	13,3	17,7	15,4	16,4	16,5	16,6	17,6	17,7	26,1	
T _{máx} (°C)	29,1	28,1	21	25,8	29,3	27,4	29,9	30,1	32,1	29,9	33,3	32,3	33,4	26,1	26,1	
T _{méd} (°C)	21,69	22,12	19,29	20,33	20,73	20,08	20,83	22,99	22,95	19,41	24,75	24,07	24,54	22,86	26,10	
Mês	Maio															
Dia	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
T _{min} (°C)	26,1	26,1	26,1	18	16,8	16,7	17,8	17,6	28,1	23,1	20,8	20,6	19,5	18,7	16,5	17,5
T _{máx} (°C)	26,1	26,1	33,2	29,9	29,4	34,5	34	33,5	28,1	33,7	35,1	35,1	33,3	29,2	29,2	27,7
T _{méd} (°C)	26,10	26,10	28,44	29,90	29,40	24,08	24,53	25,60	28,10	29,01	27,42	27,55	26,10	23,32	22,41	19,99

Mês	Junho														
Dia	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
T _{min} (°C)	18,4	16,4	18,3	19,1	18,7	20	21,7	22,9	23,6	22,2	19,7	17,3	16,3	18,8	16,1
T _{máx} (°C)	27,9	30,1	31,9	32,1	34	35	32,2	39,2	34,6	29,6	27,8	28,1	28,8	22,9	29,8
T _{méd} (°C)	22,0 3	22,7 2	23,8 0	24,3 6	24,2 4	25,8 0	23,8 6	29,6 1	27,9 1	24,9 9	23,1 1	21,6 6	21,8 8	19,9 6	22,5 0
Mês	Junho														
Dia	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
T _{min} (°C)	18,3	19	22,4	19,6	23,1	22,1	21,1	21,2	17,3	18	18,7	18,3	21,6	20,2	18,7
T _{máx} (°C)	30,9	33,6	34,7	34,4	35,1	27,4	38,3	27,6	29,8	38,2	31,9	45,6	31	33,7	32
T _{méd} (°C)	23,9 5	25,9 6	27,9 0	27,2 8	28,6 7	24,0 5	27,2 7	24,0 1	23,4 9	25,0 8	24,6 2	27,1 5	24,1 4	26,7 0	24,2 1

Mês	Julho				
Dia	1	2	3	4	5
T _{min} (°C)	19,1	17,1	17,3	20,1	19,6
T _{máx} (°C)	27,5	29,7	29,7	32,7	28
T _{méd} (°C)	23,47	23,47	23,93	25,18	22,24

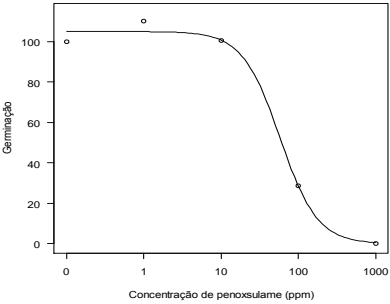
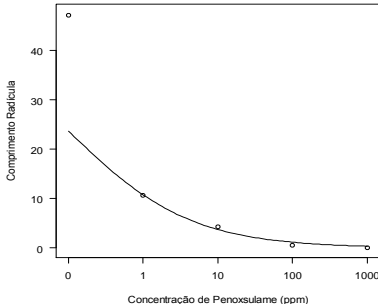
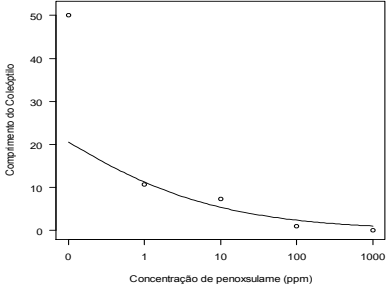
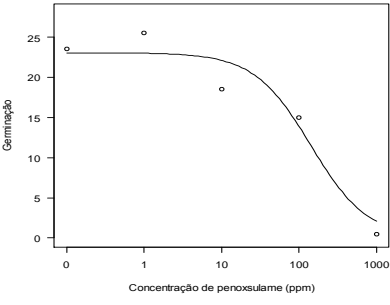
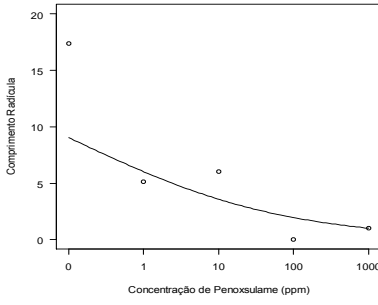
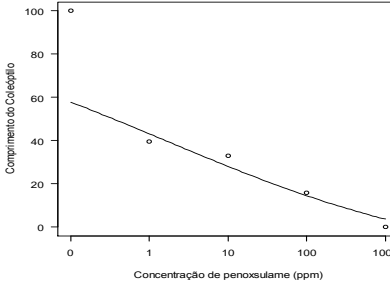
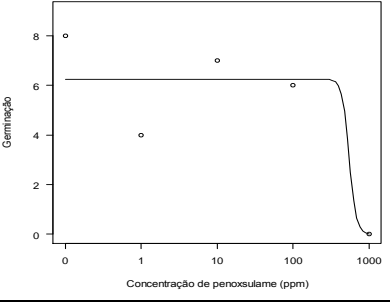
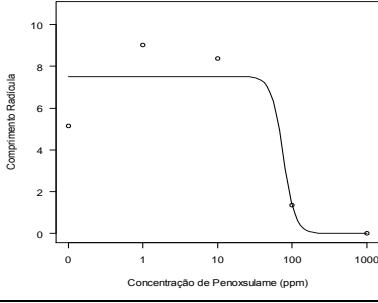
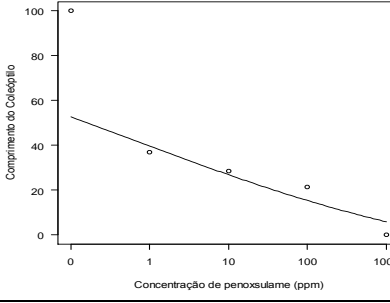
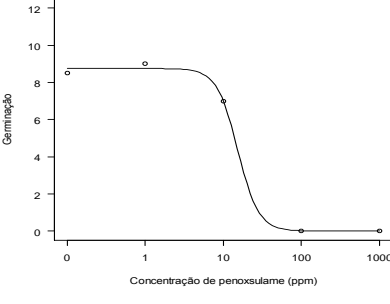
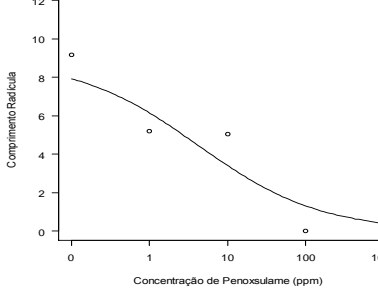
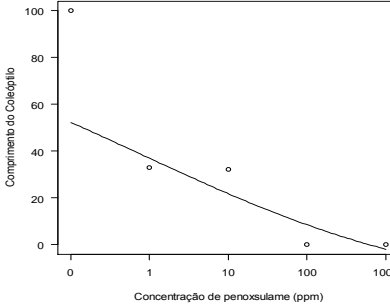
Anexo 5. Datas e coordenadas geográficas dos levantamentos florísticos.

Nº Levantamento	Coordenadas Geográficas	Data Levantamento
1	N 39°6'27.1332" W 8°39'18.2664"	04/08/2015
2	N 39°6'4.7484" W 8°37'58.1412"	04/08/2015
3	N 38°58'12.4932" W 8°36'10.782	05/08/2015
4	N 38°58'15.0888" W 8°36'10.1772"	05/08/2015
5	N 38°58'12.5544" W 8°36'8.2764"	05/08/2015
6	N 38°58'12.0864" W 8°36'6.2748"	05/08/2015
7	N 38°56'57.9084" W 8°39'3.3876"	24/08/2015
8	N 38°56'58.506" W 8°39'4.77"	24/08/2015
9	N 38°56'59.64" W 8°39'12.9636"	24/08/2015
10	N 38°57'0.1224" W 8°39'12.7908"	24/08/2015
11	N 38°56'55.8204" W 8°39'20.9268"	24/08/2015
12	N 38°56'55.2408" W 8°39'21.3012"	24/08/2015
13	N 38°56'53.4696" W 8°38'39.624"	24/08/2015
14	N 38°56'52.1088" W 8°38'41.766"	24/08/2015
15	N 38°56'51.9432" W 8°38'40.2612"	24/08/2015
16	N 38°56'50.2296" W 8°38'42.4644"	24/08/2015
17	N 38°54'46.0548" W 8°37'29.3808"	24/08/2015
18	N 38°56'52.0116" W 8°37'22.674"	24/08/2015
19	N 38°55'32.5704" W 8°34'5.1492"	25/08/2015
20	N 38°55'32.9772" W 8°34'6.6144"	25/08/2015
21	N 38°55'36.9228" W 8°34'2.6616"	25/08/2015
22	N 38°55'37.6752" W 8°34'3.3132"	25/08/2015
23	N 38°55'41.1108" W 8°34'4.9152"	25/08/2015
24	N 38°55'41.4444" W 8°34'3.8712"	25/08/2015
25	N 38°55'41.9016" W 8°34'5.214"	25/08/2015
26	N 38°55'50.2428" W 8°34'5.6964"	25/08/2015
27	N 38°55'50.7756" W 8°34'5.9232"	25/08/2015
28	N 38°55'50.3796" W 8°34'6.8448"	25/08/2015
29	N 38°55'50.7756 W 8°34'6.8808"	25/08/2015
30	N 38°55'56.3638" W 8°34'24.1104"	25/08/2015
31	N 38°55'56.838" W 8°34'23.52"	25/08/2015
32	N 38°55'56.802" W 8°34'21.1104"	25/08/2015
33	N 38°55'57.7344" W 8°34'20.7516"	25/08/2015
34	N 38°55'59.4804" W 8°34'20.8344"	25/08/2015
35	N 38°56'22.7184" W 8°34'38.9466"	25/08/2015
36	N 38°56'23.4816" W 8°34'40.278"	25/08/2015
37	N 38°58'15.4668" W 8°35'21.4224"	26/08/2015
38	N 38°58'17.1336" W 8°35'21.2136"	26/08/2015
39	N 38°58'15.4334" W 8°35'22.6572"	26/08/2015
40	N 38°58'14.718" W 8°35'25.7316"	26/08/2015
41	N 38°58'14.2032" W 8°35'28.8024"	26/08/2015
42	N 38°58'18.2244" W 8°35'24.2376"	26/08/2015
43	N 38°58'17.4936" W 8°35'27.7476"	26/08/2015
44	N 38°58'17.0616" W 8°35'29.5404"	26/08/2015

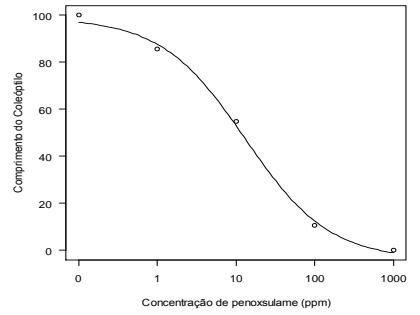
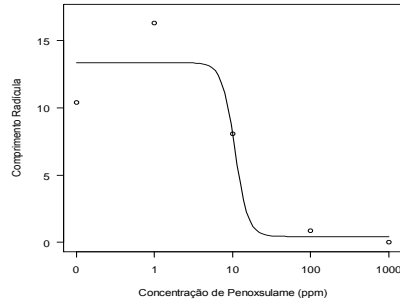
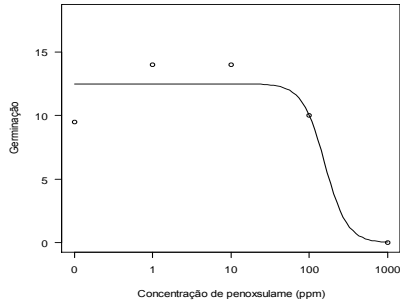
45	N 39°0'9.0252" W 8°20'28.5792"	26/08/2015
46	N 39°0'10.6128" W 8°20'29.9508"	26/08/2015
47	N 39°0'10.7476" W 8°20'28.9464"	26/08/2015
48	N 39°0'12.7476" W 8°20'28.0536"	26/08/2015
49	N 39°0'15.6672" W 8°20'27.0636"	26/08/2015
50	N 39°0'17.4888" W 8°20'27.798"	26/08/2015
51	N 39°0'18.3564" W 8°20'26.0844"	26/08/2015
52	N 39°0'18.3564" W 8°20'27.1212"	26/08/2015
53	N 39°0'19.2816" W 8°20'26.7072"	26/08/2015
54	N 39°0'19.2744" W 8°20'25.9152"	26/08/2015
55	N 39°0'19.7712" W 8°20'25.9152"	26/08/2015
56	N 39°2'15.4248" W 8°44'29.1984"	26/08/2015
57	N 39°2'17.5452" W 8°44'27.456"	26/08/2015
58	N 39°2'18.6936" W 8°44'26.574"	26/08/2015
59	N 39°2'22.9236" W 8°44'29.1732"	26/08/2015
60	N 39°2'19.6836" W 8°44'24.5256"	26/08/2015
61	N 39°2'16.5264" W 8°44'19.32"	26/08/2015
62	N 39°2'11.9616" W 8°44'14.9676"	26/08/2015
63	N 38°59'25.836" W 8°23'55.7232"	28/08/2015
64	N 38°59'25.6236" W 8°23'56.9508"	28/08/2015
65	N 38°59'26.5596" W 8°23'56.6556"	28/08/2015
66	N 38°59'29.31" W 8°23'57.1488"	28/08/2015
67	N 38°59'23.4888" W 8°24'21.9168"	28/08/2015
68	N 38°59'24.5976" W 8°24'29.3652"	28/08/2015
69	N 38°59'29.2272" W 8°24'26.766"	28/08/2015
70	N 38°59'29.5944" W 8°24'29.4084"	28/08/2015
71	N 38°59'21.6024" W 8°28'31.3968"	01/09/2015
72	N 38°59'20.1444" W 8°28'30.3564"	01/09/2015
73	N 38°59'12.0192" W 8°28'28.578"	01/09/2015
74	N 38°59'13.7076" W 8°28'29.1216"	01/09/2015
75	N 38°59'12.462" W 8°28'26.4823"	01/09/2015
76	N 38°59'13.4304" W 8°28'26.6232"	01/09/2015
77	N 38°59'6.0072" W 8°28'11.9532"	01/09/2015
78	N 38°59'5.7588" W 8°28'13.4544"	01/09/2015
79	N 38°59'4.7256" W 8°28'12.9576"	01/09/2015
80	N 38°59'5.1612" W 8°28'11.8776"	01/09/2015
81	N 38°59'20.6196" W 8°27'56.8872"	01/09/2015
82	N 38°59'19.662" W 8°27'57.5856"	01/09/2015
83	N 39°4'1.5348" W 8°29'54.9852"	02/09/2015
84	N 39°3'30.3264" W 8°29'48.8868"	02/09/2015
85	N 39°3'30.7332" W 8°29'47.778"	02/09/2015
86	N 38°58'15.1212" W 8°28'6.0456"	04/09/2015
87	N 38°58'5.1924" W 8°34'4.5912"	04/09/2015
88	N 38°58'5.5992" W 8°34'7.014"	04/09/2015
89	N 38°58'6.708" W 8°34'6.9276"	04/09/2015
90	N 38°58'6.8376" W 8°34'5.4912"	04/09/2015
91	N 38°57'59.1696" W 8°34'36.8832"	04/09/2015
92	N 38°57'59.2164" W 8°34'37.7868"	04/09/2015
93	N 38°57'58.7376" W 8°34'36.75"	04/09/2015
94	N 38°57'58.6476" W 8°34'37.5888"	04/09/2015
95	N 38°58'5.5992" W 8°34'25.4568"	04/09/2015
96	N 38°58'5.664" W 8°34'24.8196"	04/09/2015
97	N 38°58'13.4292" W 8°34'8.3712"	04/09/2015
98	N 38°58'12.6084" W 8°34'8.7276"	04/09/2015
99	N 38°58'22.1196" W 8°34'8.5512"	04/09/2015
100	N 38°58'21.522" W 8°34'8.9436"	04/09/2015

Anexo 6. Gráficos de regressão não linear para o estudo de prospecção de resistência;

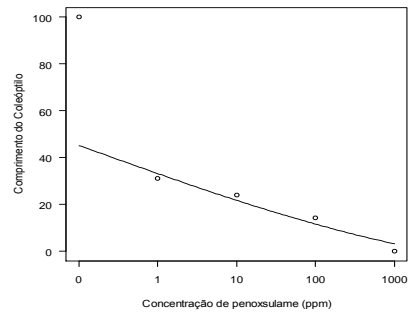
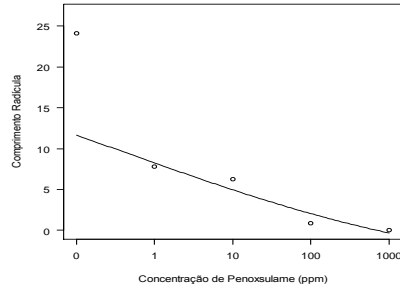
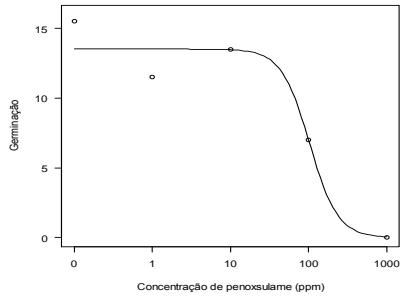
***Echinochloa phyllopogon* (Stafp) ex Kossenko**

Amostra	Germinação	Comp. da Radícula	Comp. do Coleóptilo
ECHPH1			
ECHPH2			
ECHPH3			
ECHPH4			

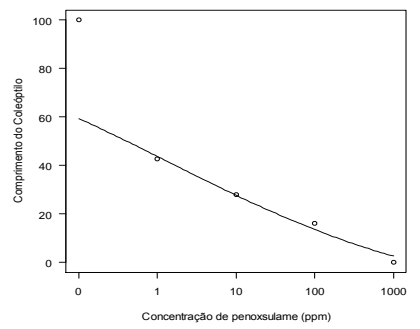
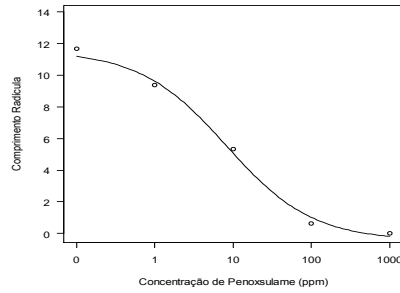
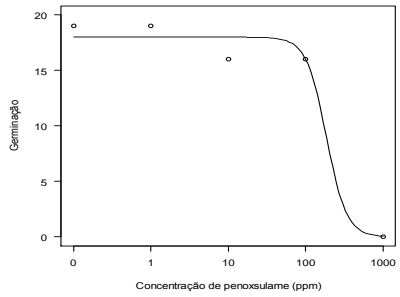
ECHPH5



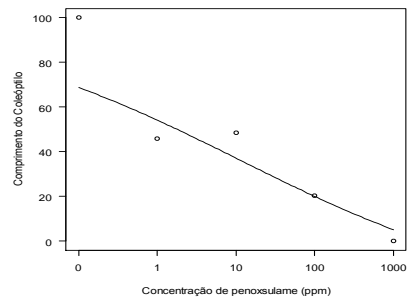
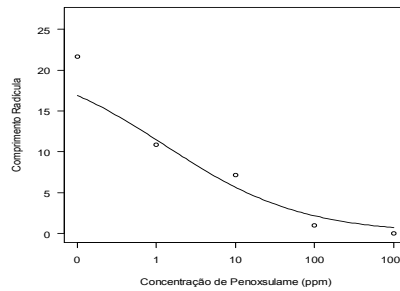
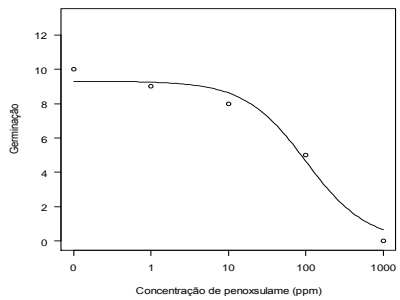
ECHPH6



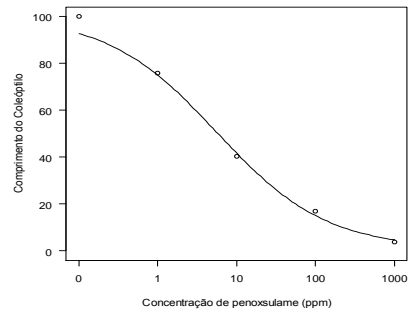
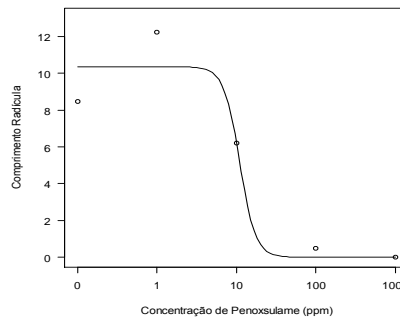
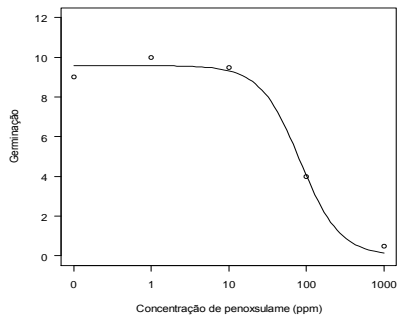
ECHPH7



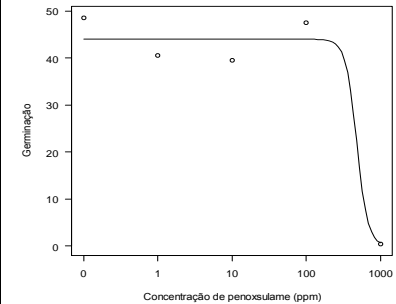
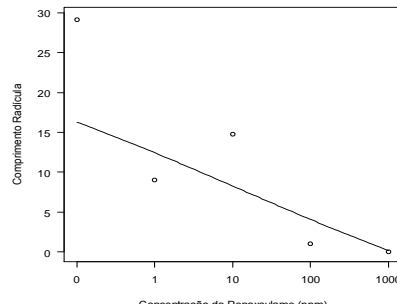
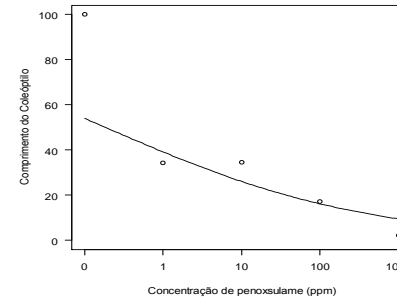
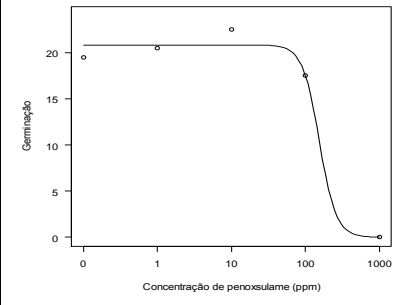
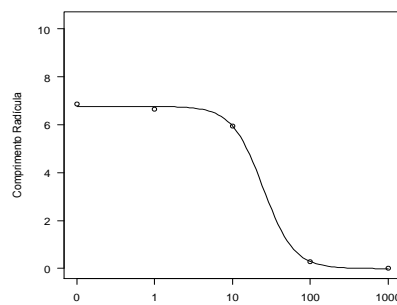
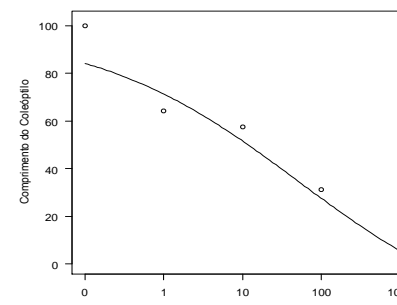
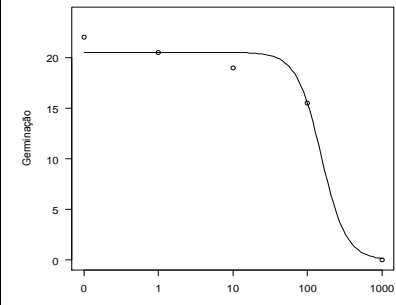
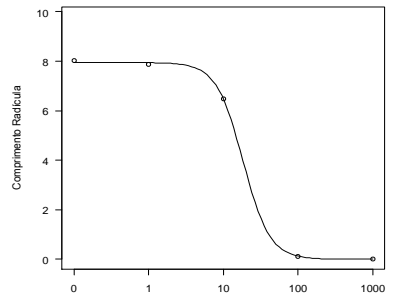
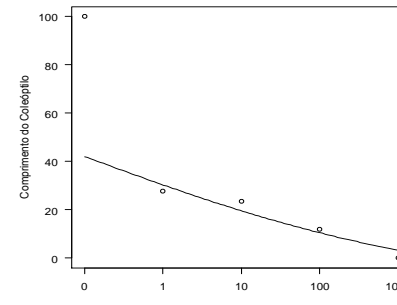
ECHPH8



ECHPH9



Echinochloa crus-galli subsp. *crus-galli* (Retz.) Honda

Amostra	Germinação	Comp. da Radícula	Comp. do Coleóptilo																																				
ECHHI1	 <table><caption>Germination Data for ECHHI1</caption><tr><th>Concentração de penoxsulame (ppm)</th><th>Germinação</th></tr><tr><td>0</td><td>48</td></tr><tr><td>1</td><td>42</td></tr><tr><td>10</td><td>40</td></tr><tr><td>100</td><td>48</td></tr><tr><td>1000</td><td>2</td></tr></table>	Concentração de penoxsulame (ppm)	Germinação	0	48	1	42	10	40	100	48	1000	2	 <table><caption>Root Length Data for ECHHI1</caption><tr><th>Concentração de Penoxsulame (ppm)</th><th>Comprimento Radícula</th></tr><tr><td>0</td><td>29</td></tr><tr><td>1</td><td>9</td></tr><tr><td>10</td><td>15</td></tr><tr><td>100</td><td>1</td></tr><tr><td>1000</td><td>0</td></tr></table>	Concentração de Penoxsulame (ppm)	Comprimento Radícula	0	29	1	9	10	15	100	1	1000	0	 <table><caption>Coleoptile Length Data for ECHHI1</caption><tr><th>Concentração de penoxsulame (ppm)</th><th>Comprimento do Coleóptilo</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td></tr><tr><td>1</td><td>35</td></tr><tr><td>10</td><td>35</td></tr><tr><td>100</td><td>18</td></tr><tr><td>1000</td><td>5</td></tr></table>	Concentração de penoxsulame (ppm)	Comprimento do Coleóptilo	0	100	1	35	10	35	100	18	1000	5
Concentração de penoxsulame (ppm)	Germinação																																						
0	48																																						
1	42																																						
10	40																																						
100	48																																						
1000	2																																						
Concentração de Penoxsulame (ppm)	Comprimento Radícula																																						
0	29																																						
1	9																																						
10	15																																						
100	1																																						
1000	0																																						
Concentração de penoxsulame (ppm)	Comprimento do Coleóptilo																																						
0	100																																						
1	35																																						
10	35																																						
100	18																																						
1000	5																																						
ECHHI2	 <table><caption>Germination Data for ECHHI2</caption><tr><th>Concentração de penoxsulame (ppm)</th><th>Germinação</th></tr><tr><td>0</td><td>20</td></tr><tr><td>1</td><td>21</td></tr><tr><td>10</td><td>23</td></tr><tr><td>100</td><td>18</td></tr><tr><td>1000</td><td>0</td></tr></table>	Concentração de penoxsulame (ppm)	Germinação	0	20	1	21	10	23	100	18	1000	0	 <table><caption>Root Length Data for ECHHI2</caption><tr><th>Concentração de Penoxsulame (ppm)</th><th>Comprimento Radícula</th></tr><tr><td>0</td><td>7</td></tr><tr><td>1</td><td>6.8</td></tr><tr><td>10</td><td>6</td></tr><tr><td>100</td><td>0.5</td></tr><tr><td>1000</td><td>0</td></tr></table>	Concentração de Penoxsulame (ppm)	Comprimento Radícula	0	7	1	6.8	10	6	100	0.5	1000	0	 <table><caption>Coleoptile Length Data for ECHHI2</caption><tr><th>Concentração de penoxsulame (ppm)</th><th>Comprimento do Coleóptilo</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td></tr><tr><td>1</td><td>65</td></tr><tr><td>10</td><td>58</td></tr><tr><td>100</td><td>32</td></tr><tr><td>1000</td><td>2</td></tr></table>	Concentração de penoxsulame (ppm)	Comprimento do Coleóptilo	0	100	1	65	10	58	100	32	1000	2
Concentração de penoxsulame (ppm)	Germinação																																						
0	20																																						
1	21																																						
10	23																																						
100	18																																						
1000	0																																						
Concentração de Penoxsulame (ppm)	Comprimento Radícula																																						
0	7																																						
1	6.8																																						
10	6																																						
100	0.5																																						
1000	0																																						
Concentração de penoxsulame (ppm)	Comprimento do Coleóptilo																																						
0	100																																						
1	65																																						
10	58																																						
100	32																																						
1000	2																																						
ECHHI4	 <table><caption>Germination Data for ECHHI4</caption><tr><th>Concentração de penoxsulame (ppm)</th><th>Germinação</th></tr><tr><td>0</td><td>22</td></tr><tr><td>1</td><td>21</td></tr><tr><td>10</td><td>19</td></tr><tr><td>100</td><td>16</td></tr><tr><td>1000</td><td>0</td></tr></table>	Concentração de penoxsulame (ppm)	Germinação	0	22	1	21	10	19	100	16	1000	0	 <table><caption>Root Length Data for ECHHI4</caption><tr><th>Concentração de Penoxsulame (ppm)</th><th>Comprimento Radícula</th></tr><tr><td>0</td><td>8</td></tr><tr><td>1</td><td>8</td></tr><tr><td>10</td><td>6.5</td></tr><tr><td>100</td><td>0.2</td></tr><tr><td>1000</td><td>0</td></tr></table>	Concentração de Penoxsulame (ppm)	Comprimento Radícula	0	8	1	8	10	6.5	100	0.2	1000	0	 <table><caption>Coleoptile Length Data for ECHHI4</caption><tr><th>Concentração de penoxsulame (ppm)</th><th>Comprimento do Coleóptilo</th></tr><tr><td>0</td><td>100</td></tr><tr><td>1</td><td>28</td></tr><tr><td>10</td><td>25</td></tr><tr><td>100</td><td>12</td></tr><tr><td>1000</td><td>2</td></tr></table>	Concentração de penoxsulame (ppm)	Comprimento do Coleóptilo	0	100	1	28	10	25	100	12	1000	2
Concentração de penoxsulame (ppm)	Germinação																																						
0	22																																						
1	21																																						
10	19																																						
100	16																																						
1000	0																																						
Concentração de Penoxsulame (ppm)	Comprimento Radícula																																						
0	8																																						
1	8																																						
10	6.5																																						
100	0.2																																						
1000	0																																						
Concentração de penoxsulame (ppm)	Comprimento do Coleóptilo																																						
0	100																																						
1	28																																						
10	25																																						
100	12																																						
1000	2																																						

Anexo 7. Estados fenológicos das plantas presentes nos vasos e a sua frequência relativa relativamente ao número total de vasos.

[illegible]

Anexo 8. Fotografias das plantas nos ensaios de planta inteira em estufa.

Estudo 1: Resistência ao penoxsulame.

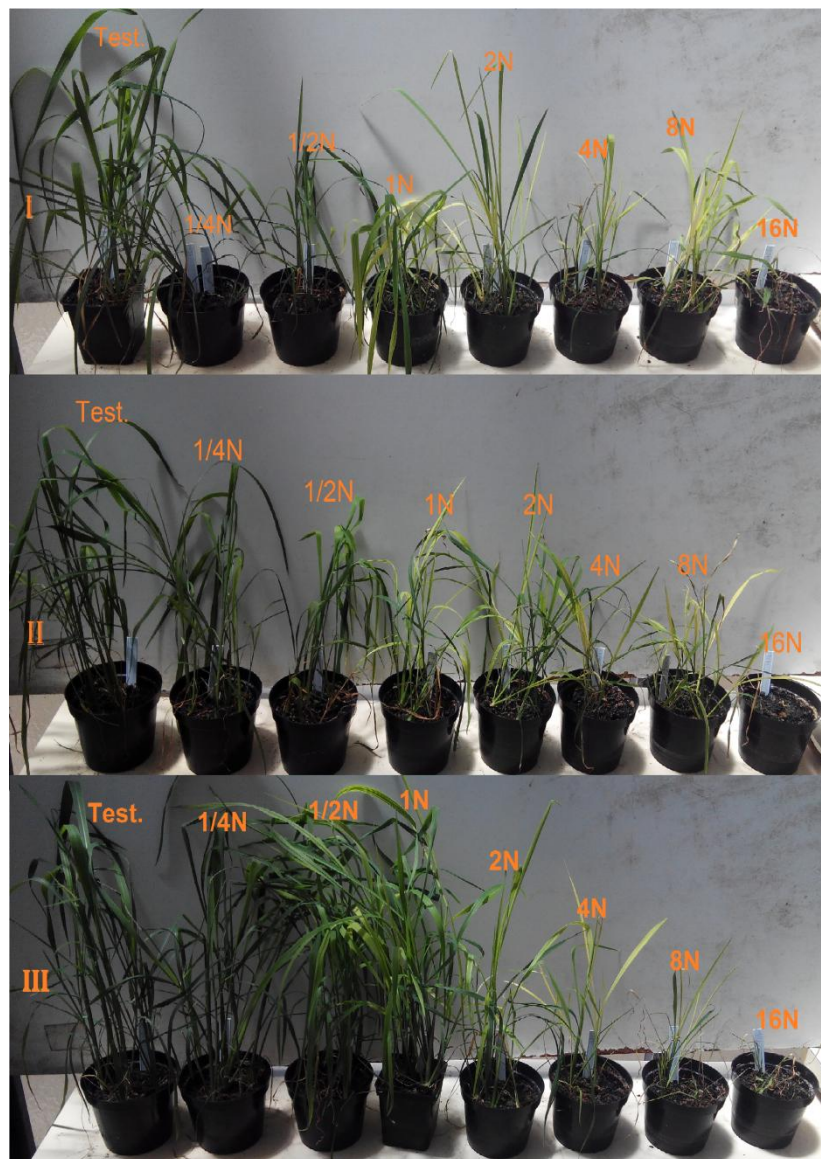
ECHPH1:



ECHPH5:



ECHPH6



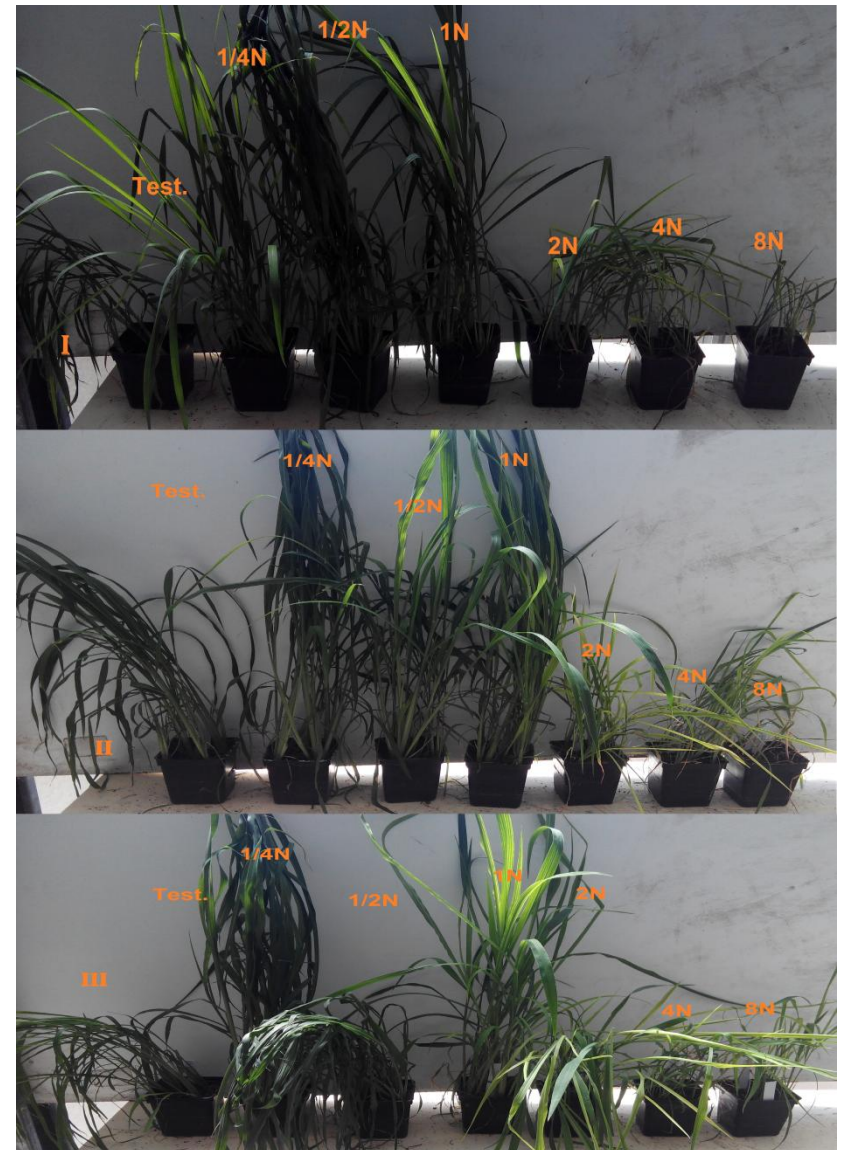
ECHHI1



ECHHI2

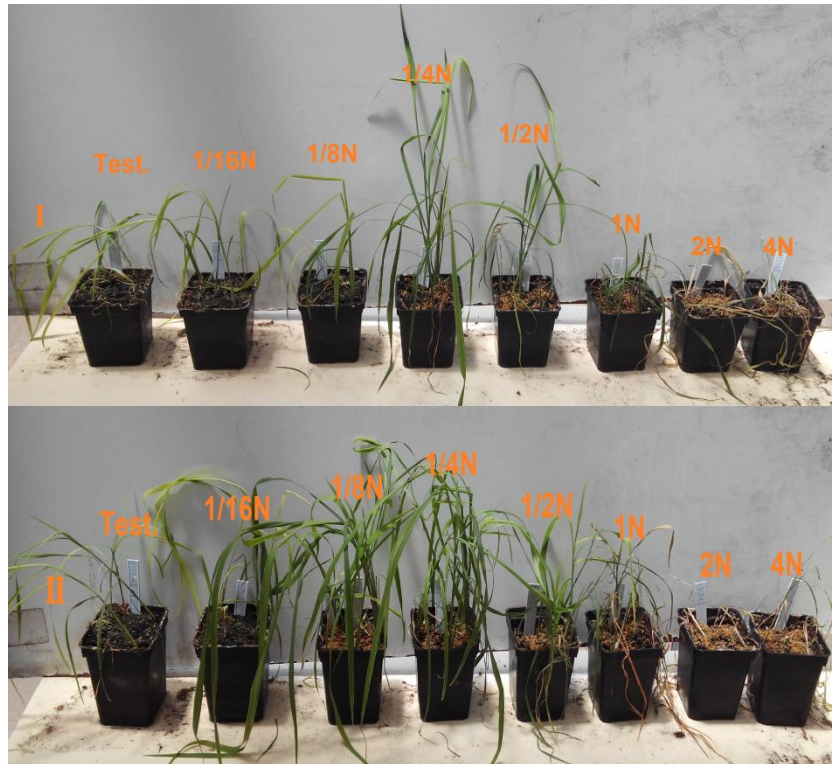


ECHHI4

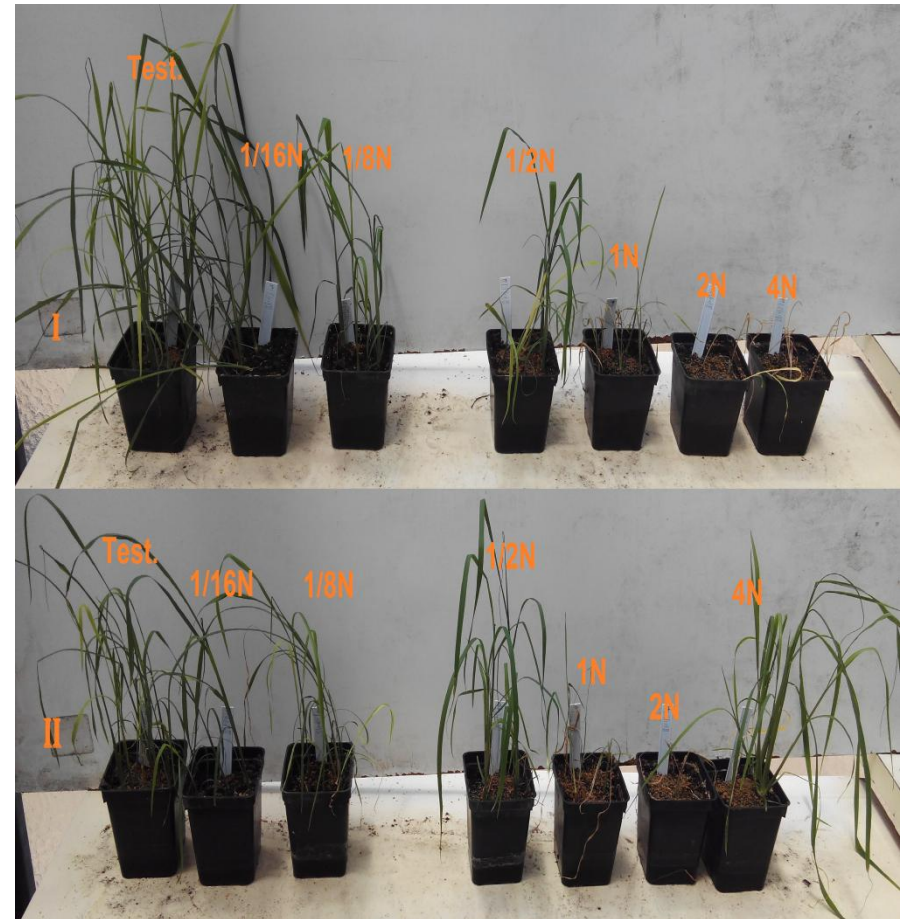


Estudo 2: Resistência cruzada múltipla ao profoxidime.

ECHPH1



ECHPH5



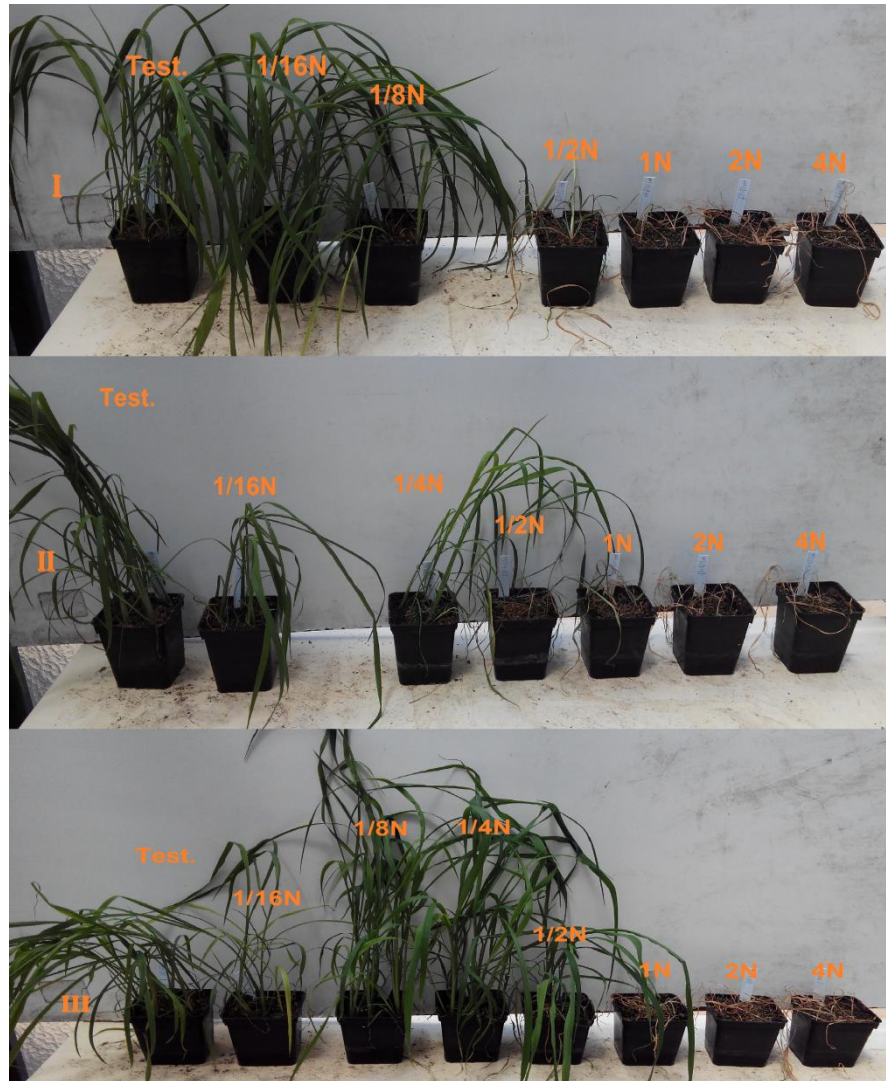
ECHPH6



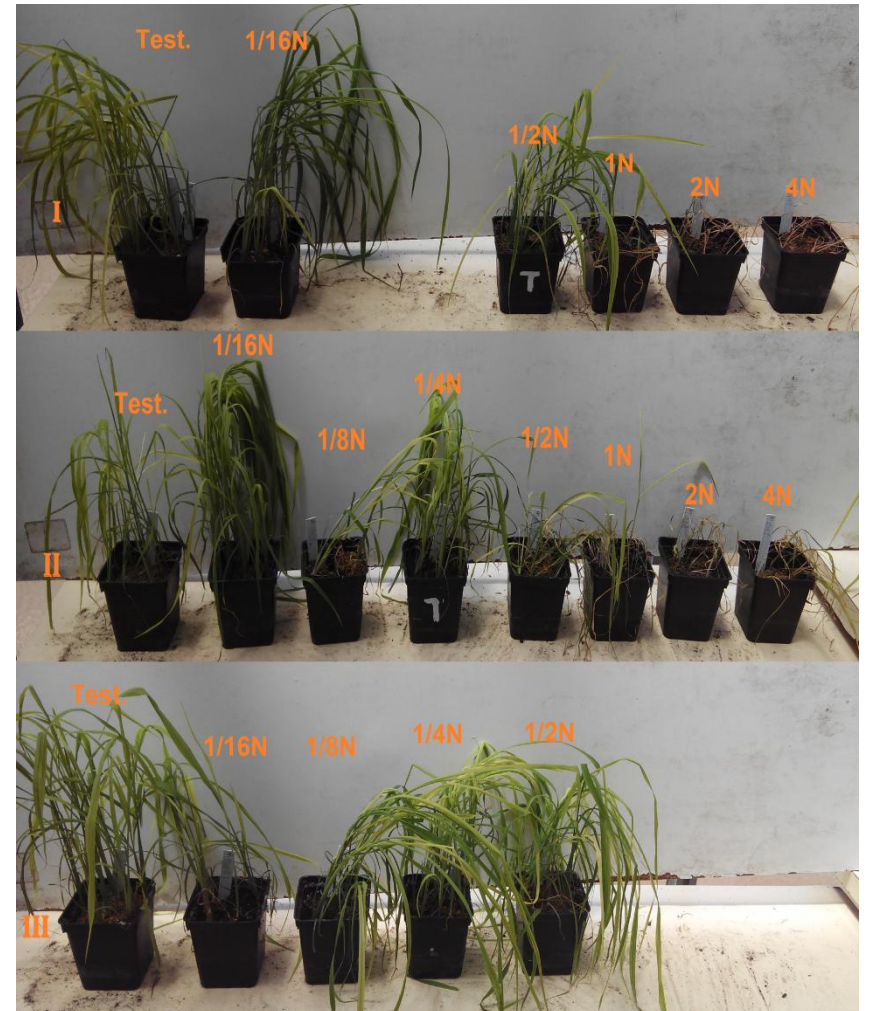
ECHHI1



ECHHI2

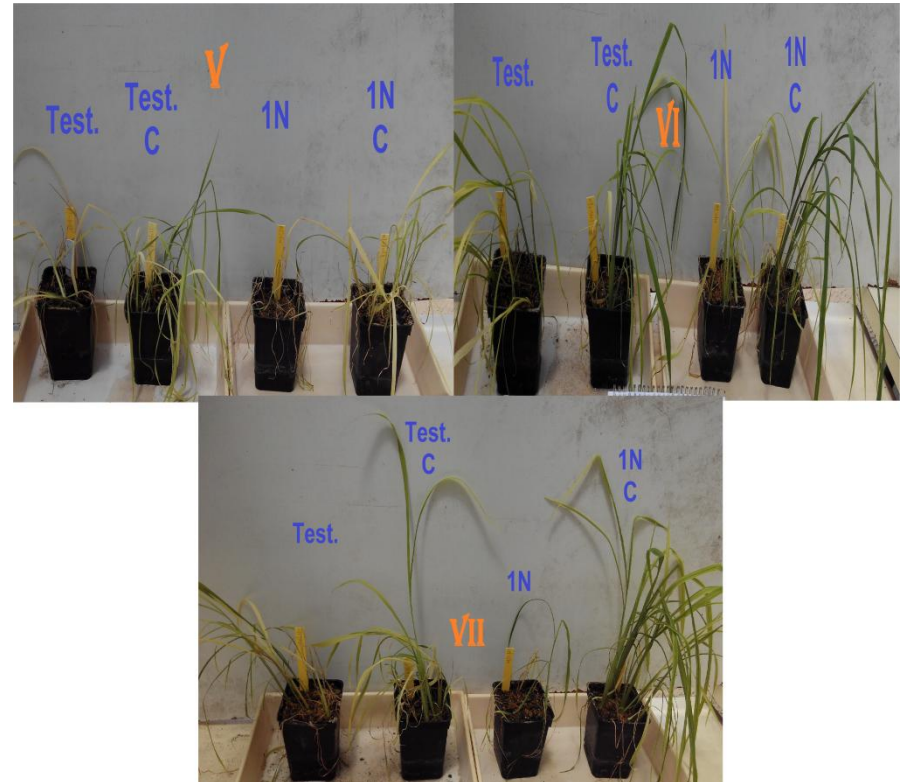
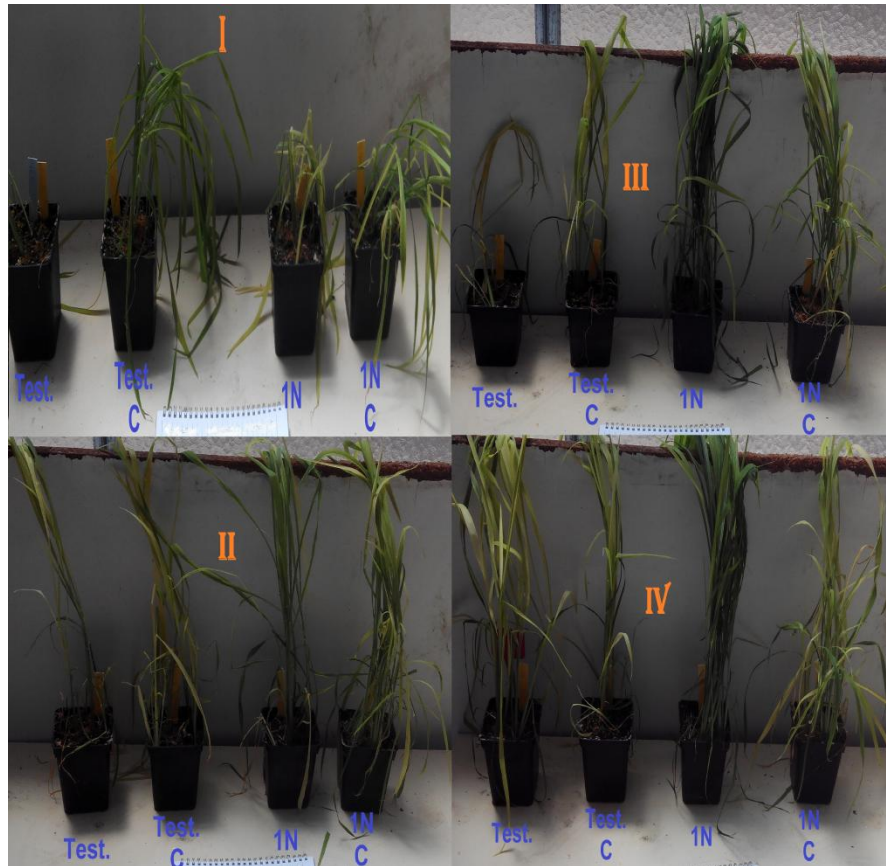


ECHHI4

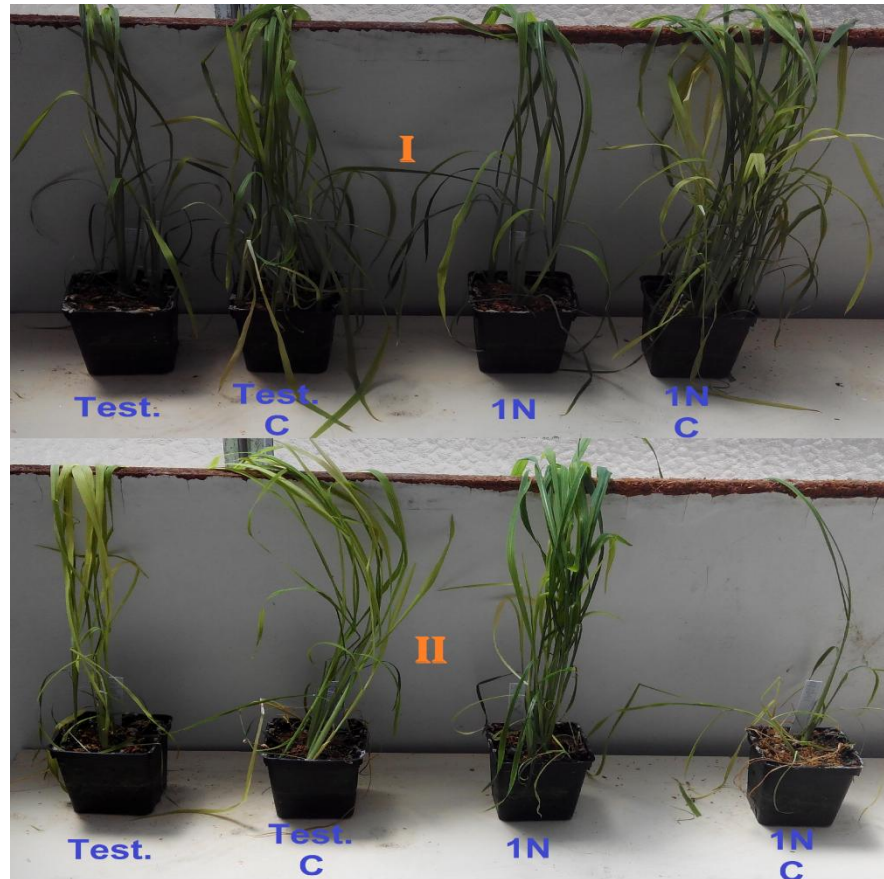


Estudo 3: Resistência metabólica.

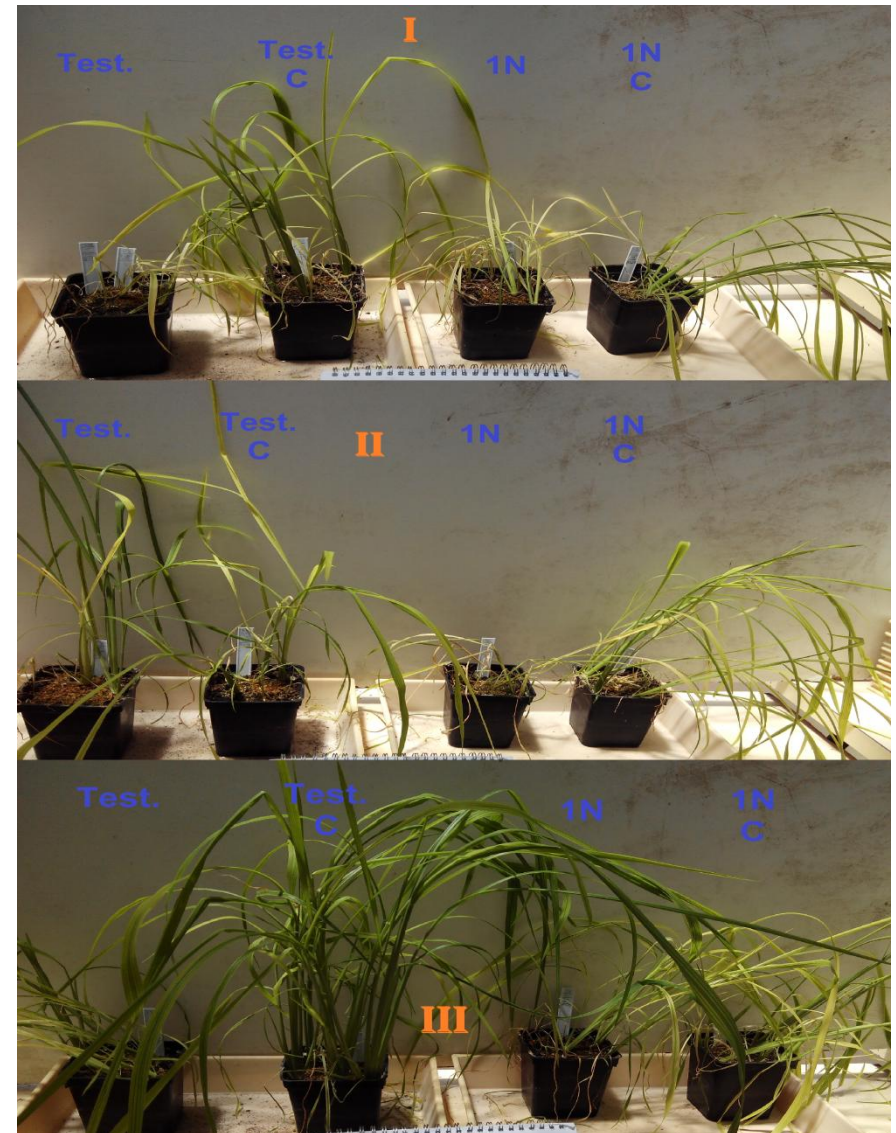
ECHPH1



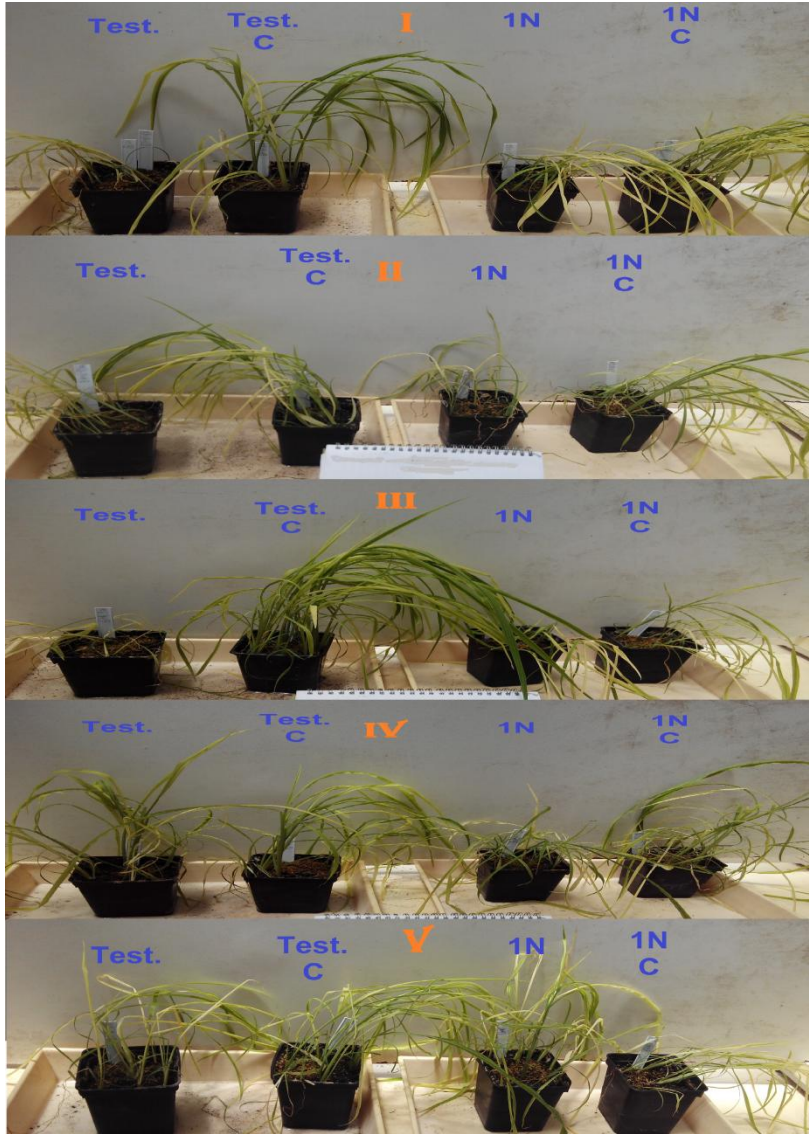
ECHPH5



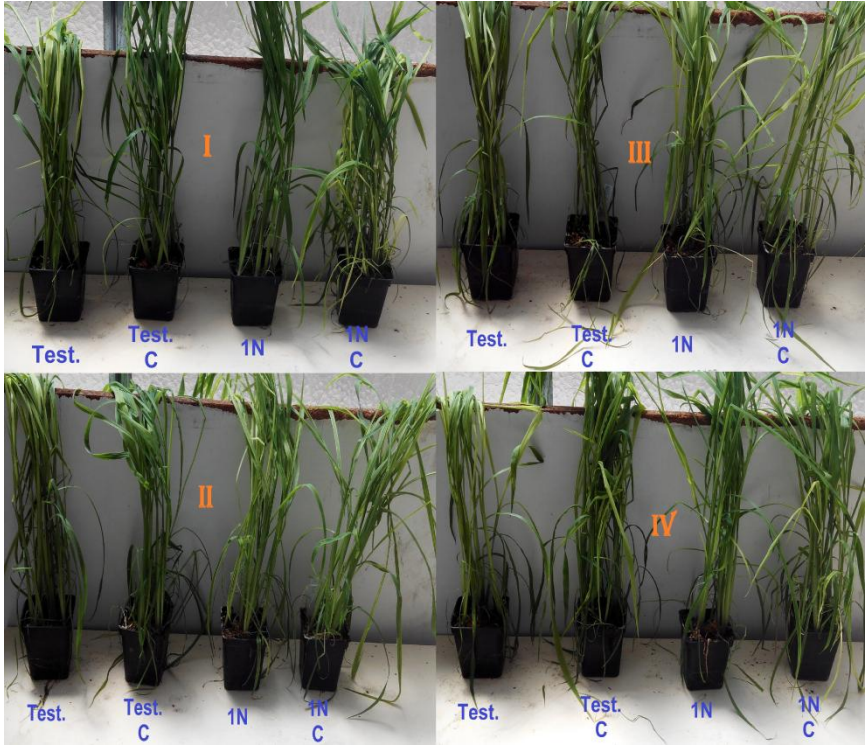
ECHPH6



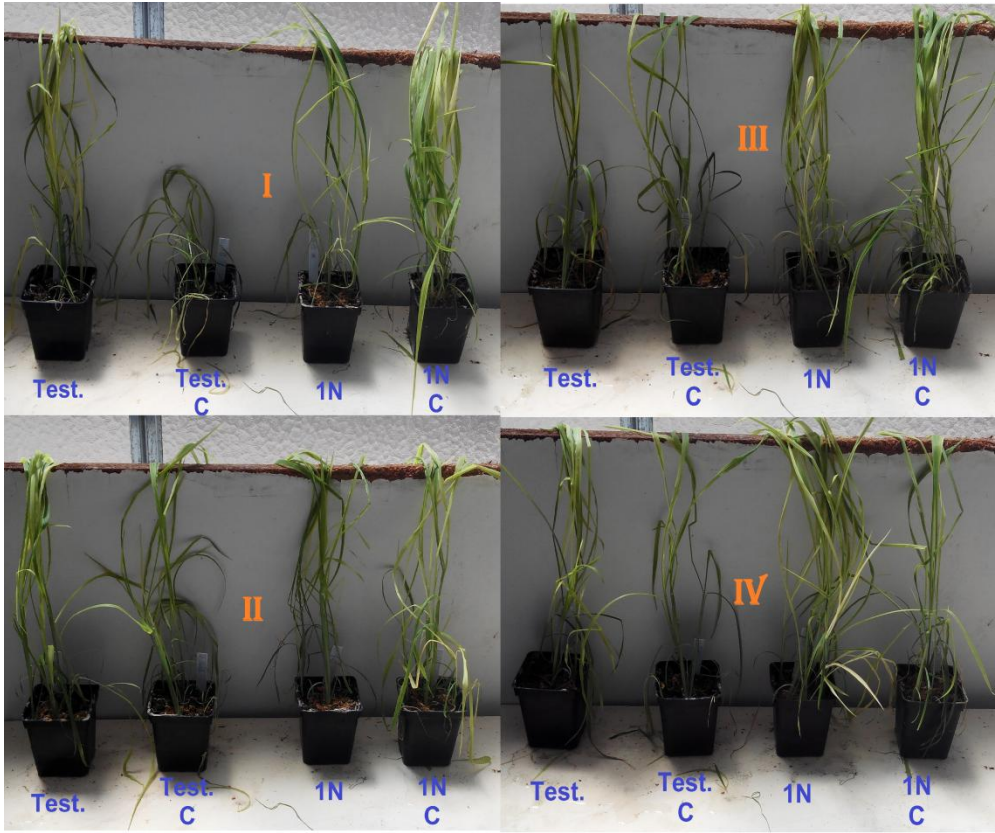
ECHHI1



ECHHI2

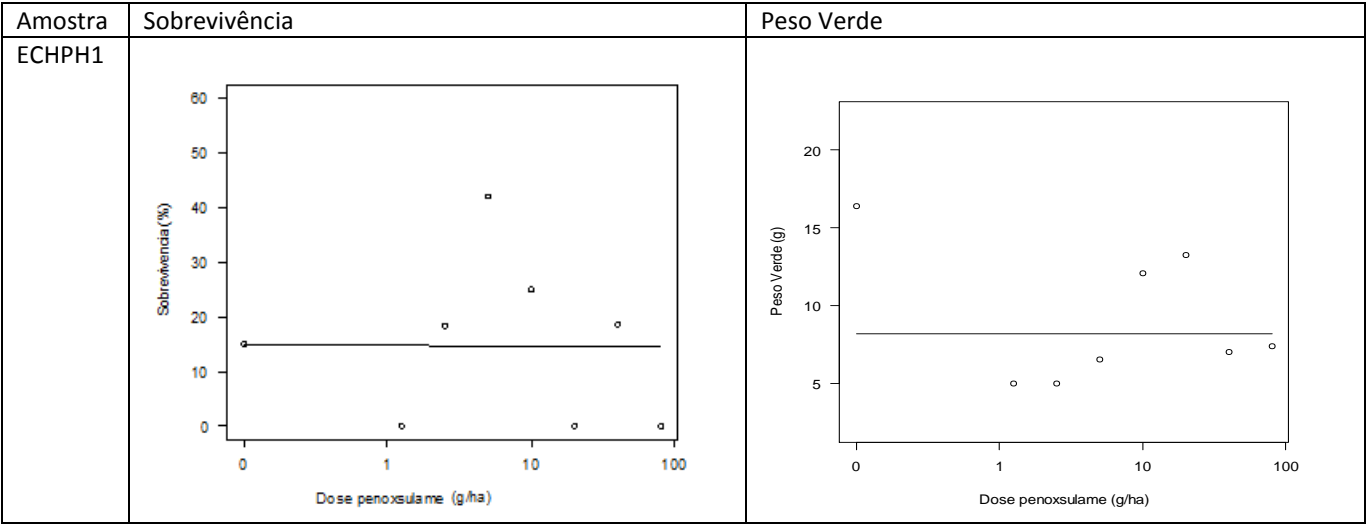


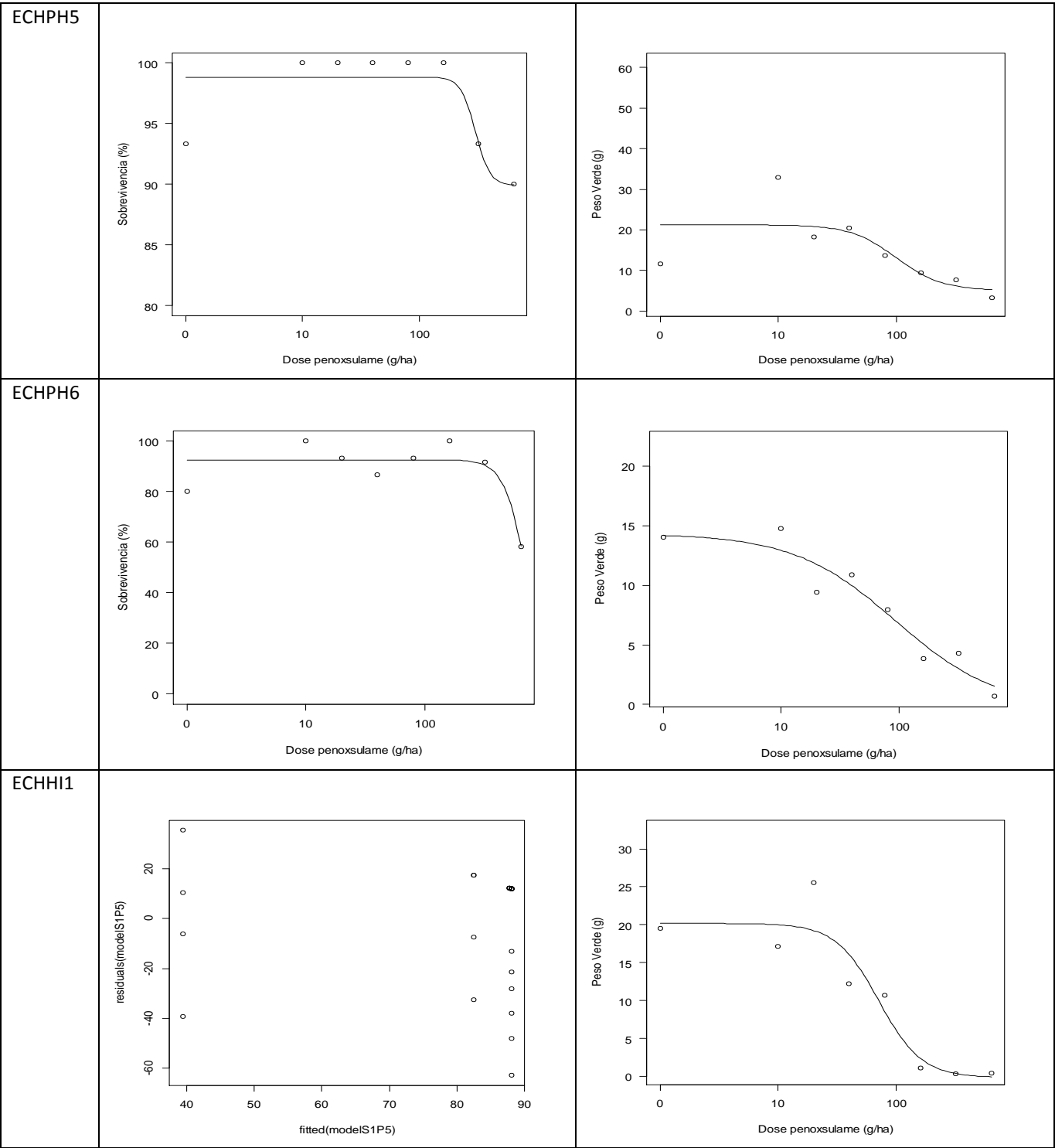
ECHHI4

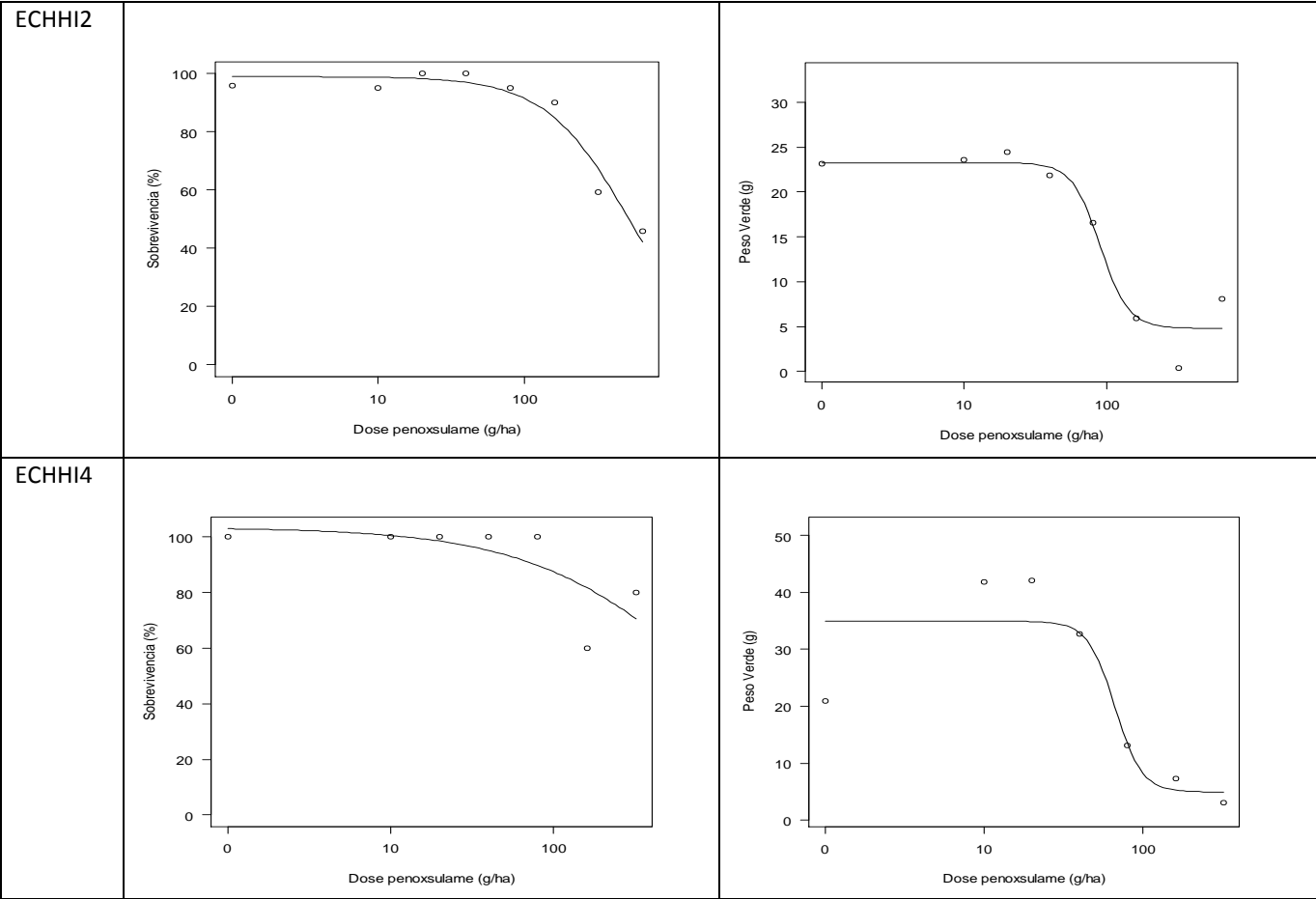


Anexo 9. Curvas dose-resposta para os estudos com planta inteira em estufa.

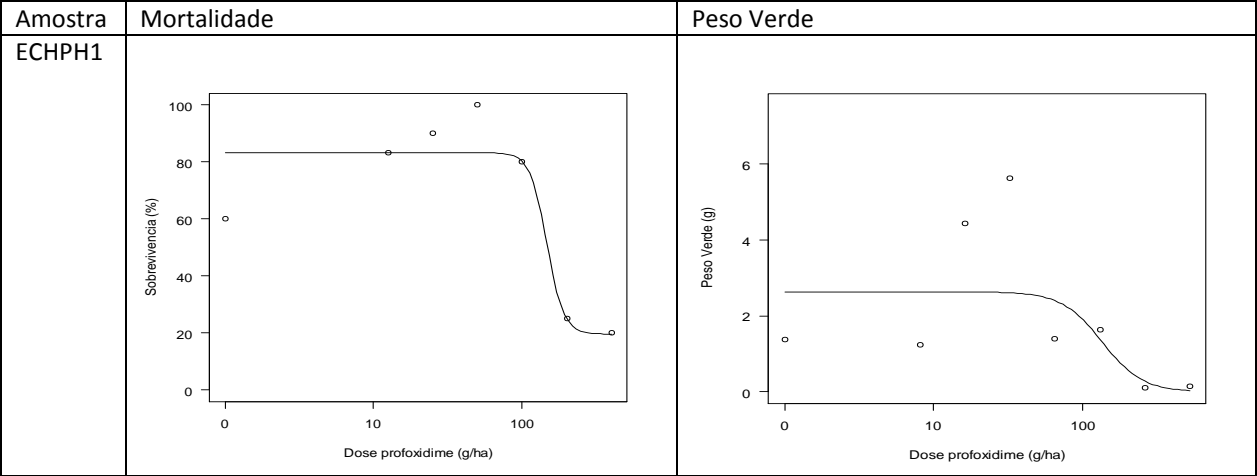
Estudo 1. Resistência ao penoxsulame.

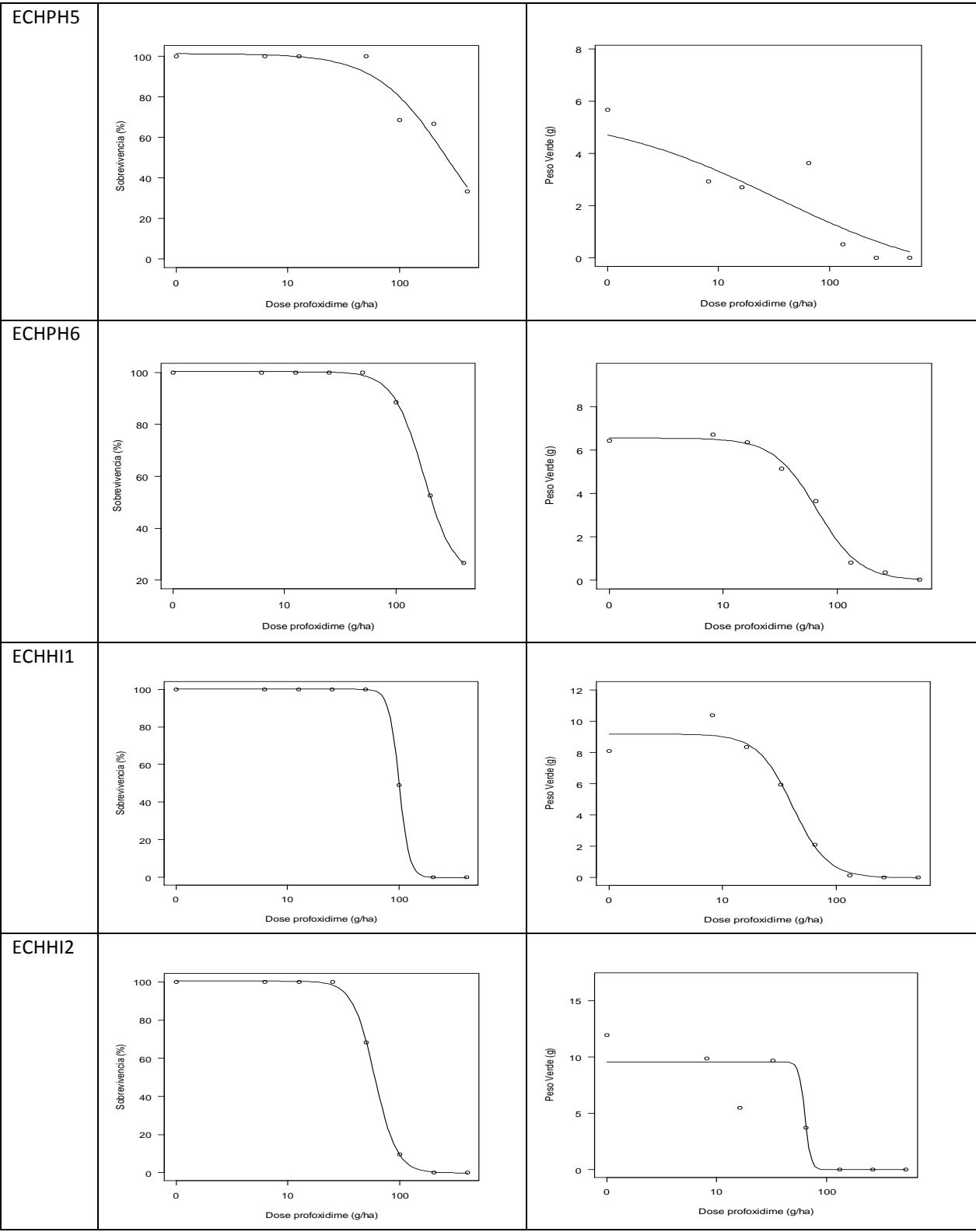


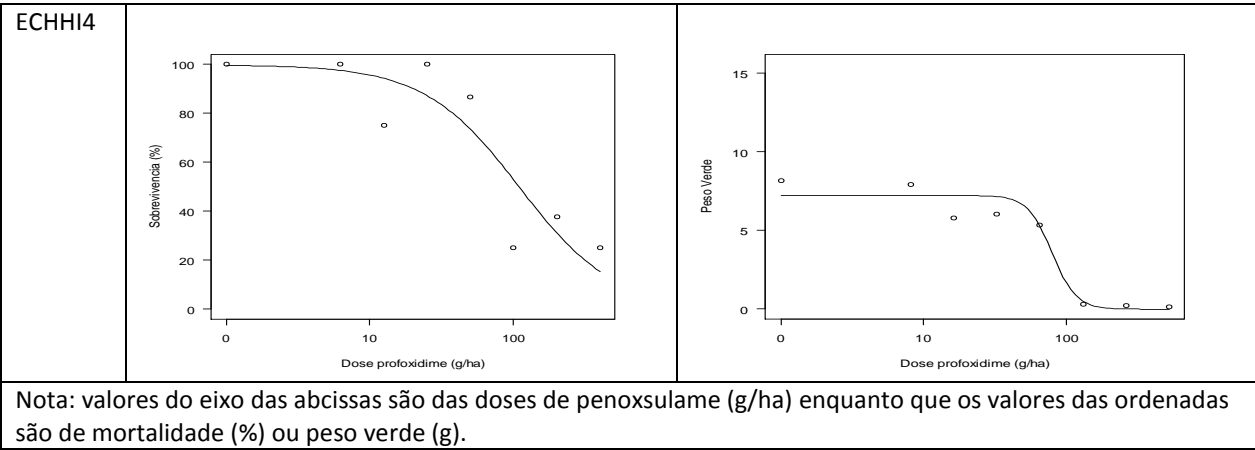




Estudo 2. Resistência múltipla ao profoxidime.

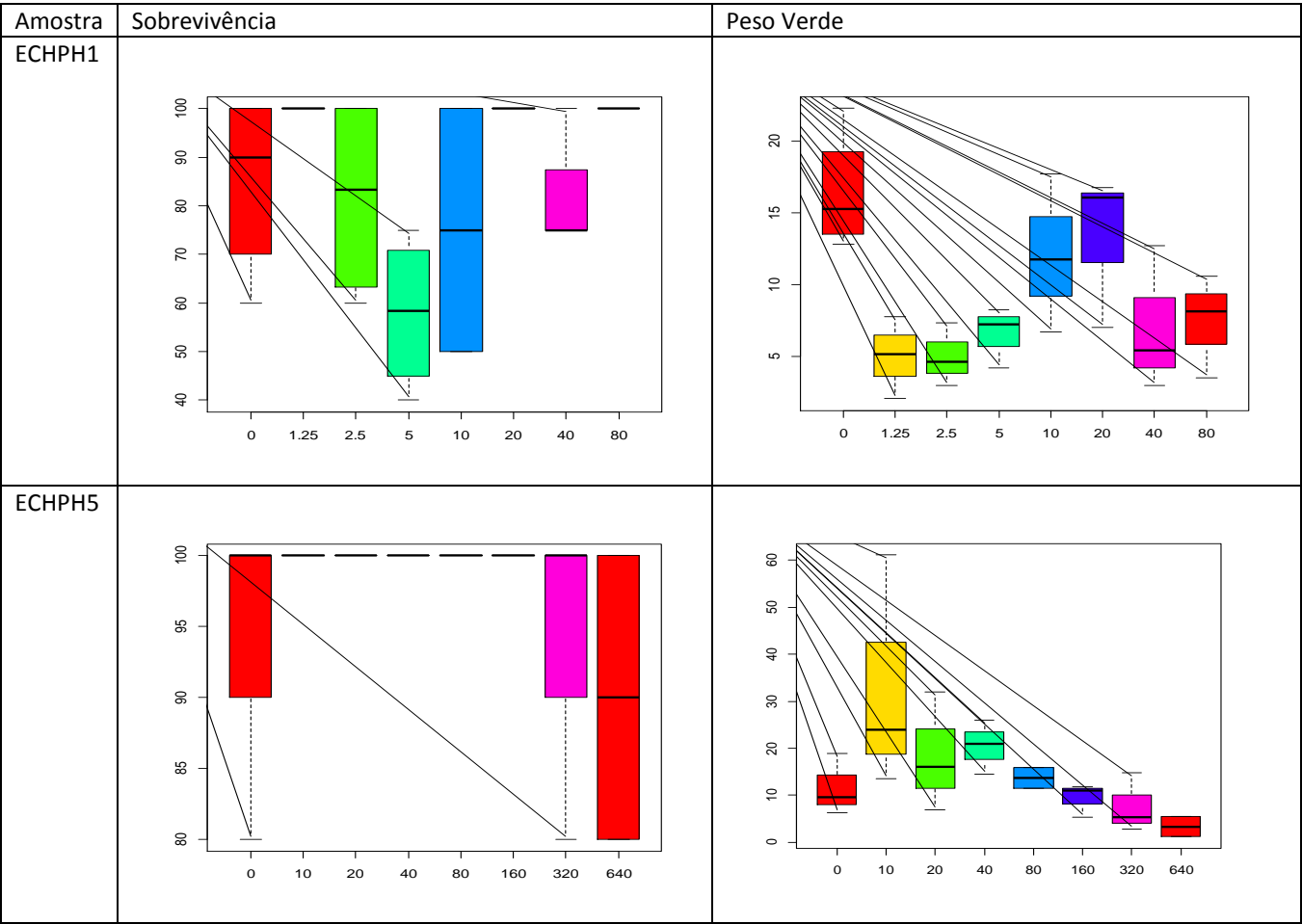




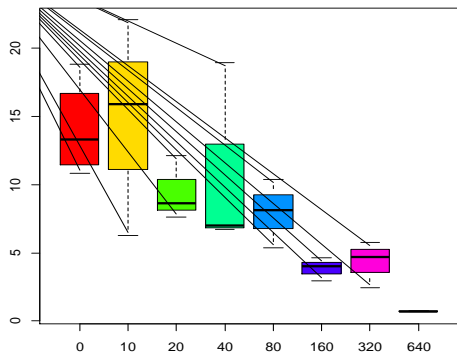
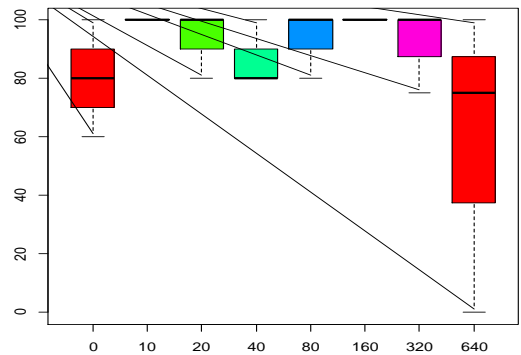


Anexo 10. Boxplots (caixas de bigodes) referentes aos estudos de dose-resposta com planta inteira em estufa.

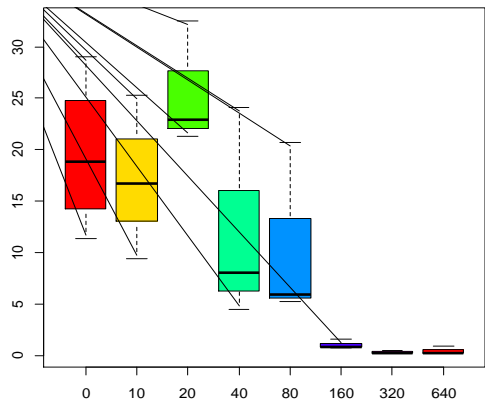
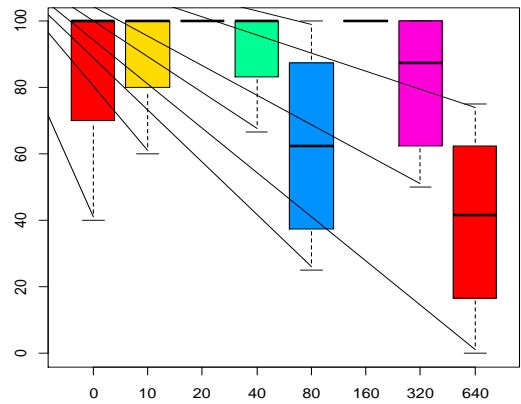
Estudo 1. Resistência ao penoxsulame.



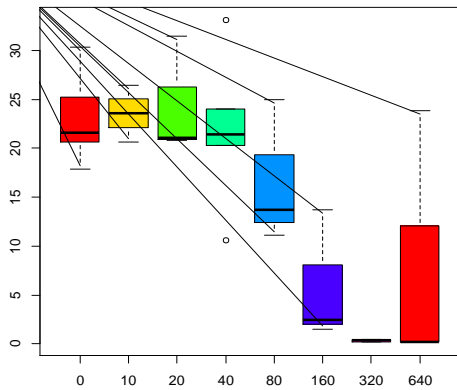
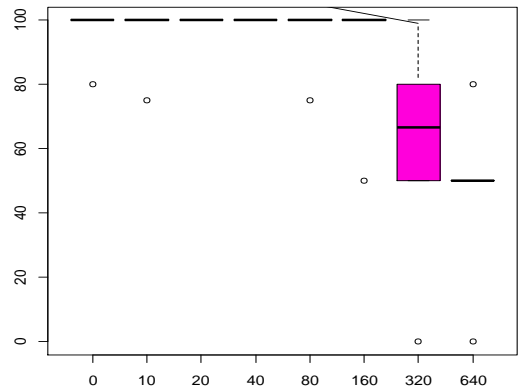
ECHPH6



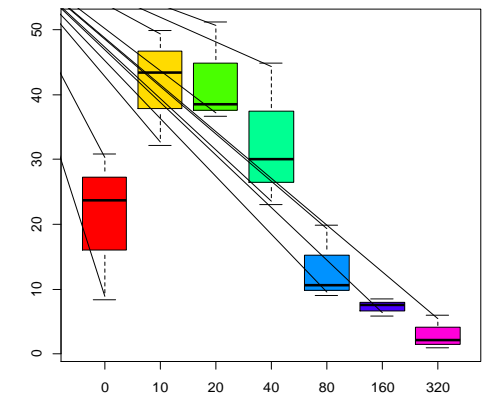
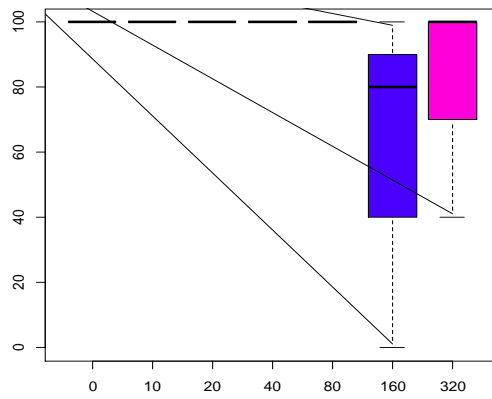
ECHHI1



ECHHI2



ECHH14

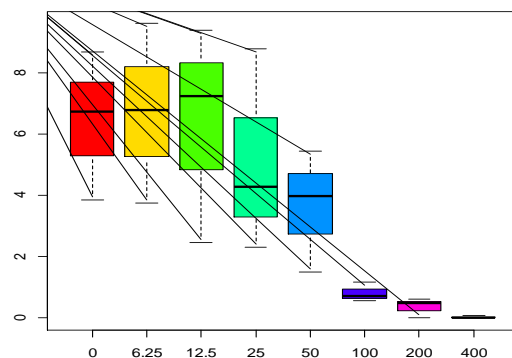
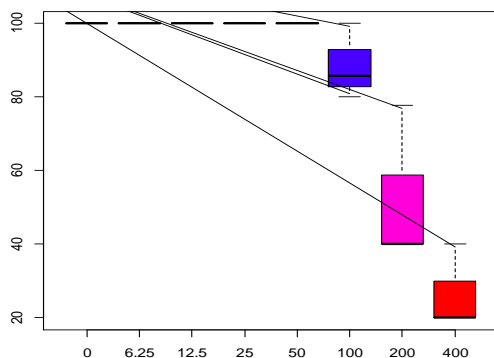


Nota: valores do eixo das abcissas são das doses de penoxsulame (g/ha) enquanto que os valores das ordenadas são de mortalidade (%) ou peso verde (g).

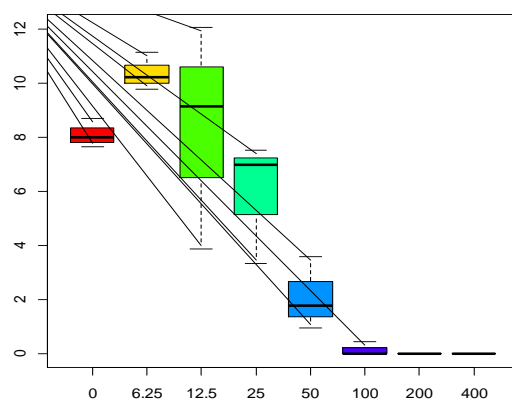
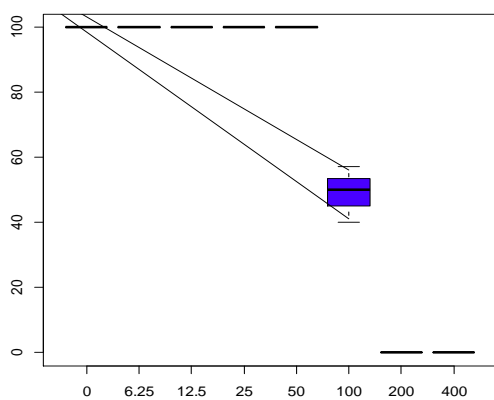
Estudo 2. Resistência cruzada múltipla ao profoxidime.

Amostra	Sobrevivência	Peso Verde																																																																																										
ECHPH1	<table><tr><th>Dose (g/ha)</th><th>Min</th><th>Q1</th><th>Median</th><th>Q3</th><th>Max</th></tr><tr><td>0</td><td>40</td><td>40</td><td>60</td><td>80</td><td>80</td></tr><tr><td>12.5</td><td>65</td><td>68</td><td>85</td><td>100</td><td>100</td></tr><tr><td>25</td><td>80</td><td>82</td><td>90</td><td>100</td><td>100</td></tr><tr><td>200</td><td>10</td><td>10</td><td>25</td><td>50</td><td>50</td></tr><tr><td>400</td><td>10</td><td>10</td><td>20</td><td>40</td><td>40</td></tr></table>	Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max	0	40	40	60	80	80	12.5	65	68	85	100	100	25	80	82	90	100	100	200	10	10	25	50	50	400	10	10	20	40	40	<table><tr><th>Dose (g/ha)</th><th>Min</th><th>Q1</th><th>Median</th><th>Q3</th><th>Max</th></tr><tr><td>0</td><td>1.0</td><td>1.0</td><td>1.5</td><td>1.8</td><td>2.2</td></tr><tr><td>6.25</td><td>0.5</td><td>0.8</td><td>1.2</td><td>1.5</td><td>1.8</td></tr><tr><td>12.5</td><td>2.5</td><td>2.5</td><td>4.5</td><td>6.5</td><td>6.5</td></tr><tr><td>25</td><td>3.5</td><td>3.8</td><td>5.5</td><td>7.0</td><td>7.0</td></tr><tr><td>50</td><td>1.2</td><td>1.2</td><td>1.5</td><td>1.8</td><td>2.0</td></tr><tr><td>100</td><td>1.2</td><td>1.2</td><td>1.5</td><td>2.0</td><td>2.0</td></tr><tr><td>200</td><td>0.2</td><td>0.2</td><td>0.2</td><td>0.2</td><td>0.2</td></tr><tr><td>400</td><td>0.2</td><td>0.2</td><td>0.2</td><td>0.2</td><td>0.2</td></tr></table>	Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max	0	1.0	1.0	1.5	1.8	2.2	6.25	0.5	0.8	1.2	1.5	1.8	12.5	2.5	2.5	4.5	6.5	6.5	25	3.5	3.8	5.5	7.0	7.0	50	1.2	1.2	1.5	1.8	2.0	100	1.2	1.2	1.5	2.0	2.0	200	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	400	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max																																																																																							
0	40	40	60	80	80																																																																																							
12.5	65	68	85	100	100																																																																																							
25	80	82	90	100	100																																																																																							
200	10	10	25	50	50																																																																																							
400	10	10	20	40	40																																																																																							
Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max																																																																																							
0	1.0	1.0	1.5	1.8	2.2																																																																																							
6.25	0.5	0.8	1.2	1.5	1.8																																																																																							
12.5	2.5	2.5	4.5	6.5	6.5																																																																																							
25	3.5	3.8	5.5	7.0	7.0																																																																																							
50	1.2	1.2	1.5	1.8	2.0																																																																																							
100	1.2	1.2	1.5	2.0	2.0																																																																																							
200	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2																																																																																							
400	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2																																																																																							
ECHPH5	<table><tr><th>Dose (g/ha)</th><th>Min</th><th>Q1</th><th>Median</th><th>Q3</th><th>Max</th></tr><tr><td>100</td><td>58</td><td>58</td><td>70</td><td>80</td><td>80</td></tr><tr><td>200</td><td>35</td><td>35</td><td>65</td><td>100</td><td>100</td></tr><tr><td>400</td><td>0</td><td>0</td><td>35</td><td>65</td><td>65</td></tr></table>	Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max	100	58	58	70	80	80	200	35	35	65	100	100	400	0	0	35	65	65	<table><tr><th>Dose (g/ha)</th><th>Min</th><th>Q1</th><th>Median</th><th>Q3</th><th>Max</th></tr><tr><td>0</td><td>3.0</td><td>4.5</td><td>6.0</td><td>7.0</td><td>7.5</td></tr><tr><td>6.25</td><td>2.8</td><td>2.8</td><td>3.0</td><td>3.2</td><td>3.5</td></tr><tr><td>12.5</td><td>0.5</td><td>2.0</td><td>3.5</td><td>3.8</td><td>4.0</td></tr><tr><td>50</td><td>2.8</td><td>2.8</td><td>3.5</td><td>4.5</td><td>4.5</td></tr><tr><td>100</td><td>0.5</td><td>0.5</td><td>0.5</td><td>0.5</td><td>0.5</td></tr></table>	Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max	0	3.0	4.5	6.0	7.0	7.5	6.25	2.8	2.8	3.0	3.2	3.5	12.5	0.5	2.0	3.5	3.8	4.0	50	2.8	2.8	3.5	4.5	4.5	100	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5																														
Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max																																																																																							
100	58	58	70	80	80																																																																																							
200	35	35	65	100	100																																																																																							
400	0	0	35	65	65																																																																																							
Dose (g/ha)	Min	Q1	Median	Q3	Max																																																																																							
0	3.0	4.5	6.0	7.0	7.5																																																																																							
6.25	2.8	2.8	3.0	3.2	3.5																																																																																							
12.5	0.5	2.0	3.5	3.8	4.0																																																																																							
50	2.8	2.8	3.5	4.5	4.5																																																																																							
100	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5																																																																																							

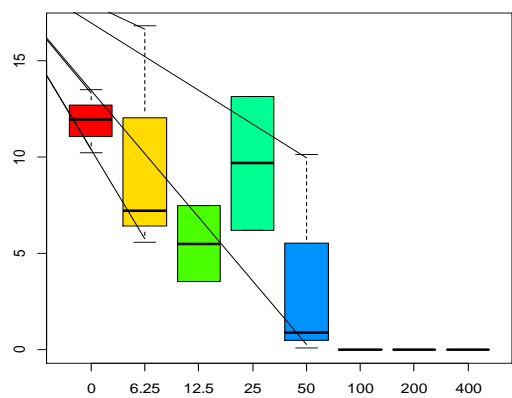
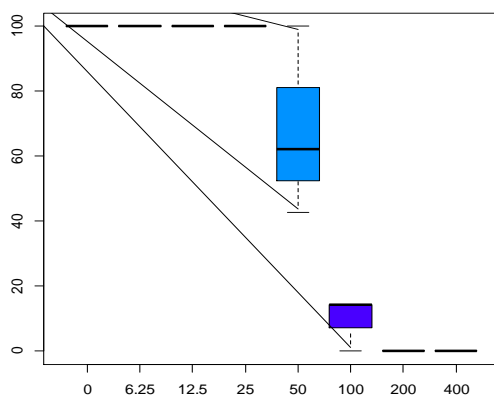
ECHPH6

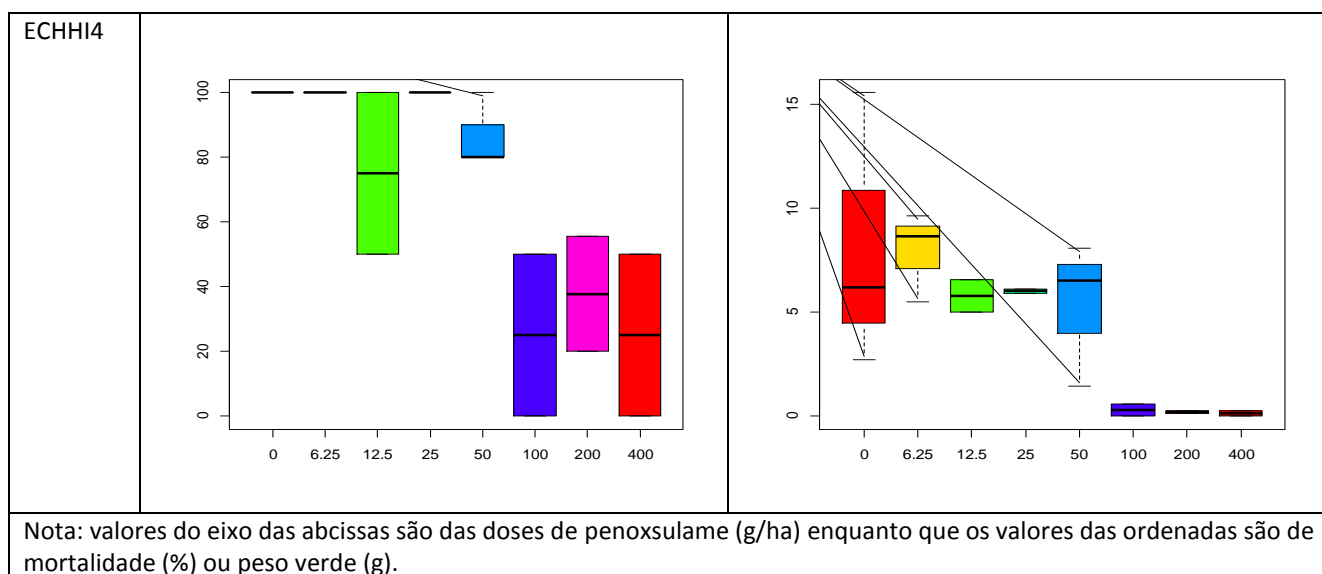


ECHHI1



ECHHI2





Anexo 11. Quadros de grupos homogêneos para os dois ensaios do estudo de detecção de resistência metabólica ao penoxsulame em estufa (Os números entre parenteses após o nome da amostra significam o número de repetições a partir do qual se calcularam as médias).

Ensaio 1					Ensaio 2				
Amostra	Modalidade	Média	(SE)	g.h.	Amostra	Modalidade	Média	(SE)	g.h.
ECHPH1 (4)	T	5,87	2,09	a	ECHPH1 (3)	T	1,95	1,39	a
	C	5,07	2,09	a		C	2,62	1,39	a
	P	13,25	2,09	a		P	1,33	1,39	a
	PC	10,63	2,09	a		PC	4,94	1,39	a
ECHPH5 (4)	T	5,1	1,99	b	ECHHI1 (5)	T	2,37	1,02	b
	C	7,79	1,99	b		C	6,96	1,02	a
	P	19,05	1,99	a		P	2,2	1,02	b
	PC	9,66	1,99	b		PC	4,58	1,02	ab
ECHHI2 (4)	T	20,66	4,55	a	ECHPH6 (8)	T	4,54	4,32	a
	C	30,32	4,55	a		C	13,31	4,32	a
	P	34,66	4,55	a		P	4,52	4,32	a
	PC	38,46	4,55	a		PC	10,48	4,32	a
ECHHI4 (5)	T	5,3	1,17	a	T - testemunha; C - clorpirifos; P - penoxsulame; CP - clorpirifos+penoxsulame. Valores seguidos da mesma letra não diferem significativamente ao nível de significância de 5 % no teste de comparação de médias de Tuckey.				
	C	4,14	1,17	a					
	P	6,23	1,17	a					
	PC	8,07	1,17	a					

T - testemunha; C - clorpirifos; P - penoxsulame;
 CP - clorpirifos+penoxsulame.

Valores seguidos da mesma letra não diferem
 significativamente ao nível de significância de 5
 % no teste de comparação de médias de Tuckey